

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001年2月8日 (08.02.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/09317 A1(51) 国際特許分類⁷: C12N 15/12, C07K
14/47, C12N 5/10, 1/21, 1/19, C12P 21/02, C07K 16/18,
G01N 33/53, 33/577, C12Q 1/02, 1/68

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/05063

(22) 国際出願日: 2000年7月28日 (28.07.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/248036 1999年7月29日 (29.07.1999) JP
特願平11/300253 1999年8月27日 (27.08.1999) JP
60/159,590 1999年10月18日 (18.10.1999) US
特願2000/118776 2000年1月11日 (11.01.2000) JP
60/183,322 2000年2月17日 (17.02.2000) US
特願2000/183767 2000年5月2日 (02.05.2000) JP
特願2000/241899 2000年6月9日 (09.06.2000) JP(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社
ヘリックス研究所 (HELIX RESEARCH INSTITUTE)
[JP/JP]; 〒292-0812 千葉県木更津市矢部1532番地3
Chiba (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 太田紀夫 (OTA,
Toshio) [JP/JP]; 〒251-0042 神奈川県藤沢市辻堂新町
1-2-7-105 Kanagawa (JP). 磯貝隆夫 (ISOGAI, Takao)
[JP/JP]; 〒300-0303 茨城県稲敷郡阿見町大室511-12Ibaraki (JP). 西川哲夫 (NISHIKAWA, Tetsuo) [JP/JP];
〒173-0013 東京都板橋区米川町27-3-403 Tokyo (JP).
林 浩司 (HAYASHI, Koji) [JP/JP]; 〒299-0125 千
葉県市原市有秋台西1-9-446 Chiba (JP). 齋藤 薫
(SAITO, Kaoru) [JP/JP]; 〒292-0056 千葉県木更津市
木更津2-8-1-201 Chiba (JP). 山本順一 (YAMAMOTO,
Jun-ichi) [JP/JP]; 〒292-0041 千葉県木更津市清見台
東3-28-3-A101 Chiba (JP). 石井静子 (ISHII, Shizuko)
[JP/JP]; 〒292-0812 千葉県木更津市矢部4508-19-202
Chiba (JP). 杉山友康 (SUGIYAMA, Tomoyasu) [JP/JP];
〒292-0045 千葉県木更津市清見台2-6-23-102 Chiba
(JP). 若松 愛 (WAKAMATSU, Ai) [JP/JP]; 〒292-0014
千葉県木更津市高柳1473-4-202 Chiba (JP). 永井啓
一 (NAGAI, Keiichi) [JP/JP]; 〒207-0022 東京都東大
和市桜が丘3-44-14-9-204 Tokyo (JP). 大槻哲嗣 (OT-
SUKI, Tetsuji) [JP/JP]; 〒292-0055 千葉県木更津市
朝日3-1-10-B102 Chiba (JP). 油谷浩幸 (ABURATANI,
Hiroyuki) [JP/JP]; 〒180-0003 東京都武蔵野市吉
祥寺南町3-30-16 Tokyo (JP). 児玉龍彦 (KODAMA,
Tatsuhiko) [JP/JP]; 〒141-0021 東京都品川区上大崎
2-13-22-909 Tokyo (JP). 緑川 泰 (MIDORIKAWA,
Yutaka) [JP/JP]; 〒141-0022 東京都品川区東五反田
4-3-30-202 Tokyo (JP).(74) 代理人: 清水初志, 外 (SHIMIZU, Hatsushi et al.); 〒
300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階
Ibaraki (JP).(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT,

[続葉有]

(54) Title: STOMACH CANCER-ASSOCIATED GENE

(54) 発明の名称: 胃癌関連遺伝子

(57) Abstract: A gene showing a change in the expression level in stomach cancer or stomach cancer metastatic focus. This gene and the protein encoded thereby are useful in presuming the canerization of stomach cancer or the malignancy of scirrhou stomach cancer. Also, it is expected that the above gene and protein are usable as the target in designing drugs.

(57) 要約:

本発明は、胃癌や胃癌の転移巣において発現レベルが変化している遺伝子を提供する。本発明の遺伝子、ならびにそれがコードするタンパク質は、胃癌の癌化や、スキルス胃癌の悪性度の予測において有用である。また、胃癌の発生やその転移を防止するための創薬ターゲットとして期待できる。



WO 01/09317 A1



RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

添付公開書類:

一 国際調査報告

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

胃癌関連遺伝子

技術分野

本発明は、胃癌に関連する遺伝子に関する。

背景技術

胃癌は世界的に見ても日本人に多く見られる癌であり、日本における癌死亡原因の上位にランクされる重要な疾病である。胃癌は、早期に発見されて、早期に外科的に治療できたケースでは5年生存率も90%を超える良好な成績が得られている。一方、手術不能な進行癌や転移を有するケースでは有効な抗癌剤が開発されていないため、予後不良である。

臨床現場で有用な、胃癌特異的腫瘍マーカーが開発されていないことが、胃癌の早期発見を困難にしている。胃癌の発癌や悪性化と関連して発現が増加する遺伝子についての報告は少ないため、早期発見につながる胃癌の指標は知られていない。そのため胃癌の早期発見を目的とするスクリーニング方法として、X線間接撮影が広く行われてきた。しかしX線の被曝の機会を増やすことや、読影技術によって検査成績が大きく左右されることなどの問題点が指摘された。その後、血清ペプシノーゲンの値が、胃癌の先行病変である萎縮性胃炎を反映することが報告され、胃癌のスクリーニング方法に応用された。しかしペプシノーゲンは、胃で分泌される消化酵素の前駆体であり、胃癌治療の標的分子とすることはできない。また、ペプシノーゲン法は胃癌の悪性度の指標とはならない。

胃癌の原因遺伝子が同定されれば、その発現レベルや活性化を指標として胃癌の早期発見が可能となる。あるいは、胃癌の発癌や悪性化にともなって発現レベルが変化する遺伝子を見出すことができれば、やはり胃癌の早期発見や予後の推

定を容易にするものと期待できる。

一方、胃癌患者の中には、原発巣を切除したのにもかかわらず治癒しなかった例（非治癒切除症例）もしばしば認められる。その大きな原因は、腹膜播種（peritoneal metastasis）である（外科治療 75: 96-102, 1996, Jpn. Surgery 19: 153, 1989）。腹膜播種は、胃癌切除手術後の再発形式で最も頻度の高いものである。腹膜播種に対する様々な治療方法が試みられたが、未だに十分な成績は得られていない。腹膜播種はスキルス胃癌（scirrhous gastric cancer）に特徴的な進展様式といえる（日病会誌 81:21-49, 1992）。

胃癌の腹膜播種は、漿膜から遊離した癌細胞が腹膜に着床して増殖するという、単純な過程から成立しているものと予想される。しかし、腹膜内に遊離した癌細胞の全てが播種形成に至ることは無い。このことは、スキルス胃癌に由来する細胞をヌードマウスの腹腔に移植しても播種を形成する頻度が低いことから推測される。したがって、特殊な形質を有する細胞だけが播種の形成に至るのではないかと予想されているが、播種形成の詳細な機序については明らかにされていない。

これまでの報告によれば、次のような特徴を持つスキルス胃癌に比較的腹膜播種が多くみられるとされている（日消外会誌 23:1813-1820, 1990、日消外会誌 25:763-774, 1992）。

肉眼型では3型、あるいは4型の浸潤型

組織型では低分化型

高度のリンパ節転移陽性例

しかし現実には、このような臨床病理学的な特徴だけで腹膜播種形質を説明することは難しい。そこで、腹膜播種の機序を明らかにするために、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3が樹立された。OCUM-2MD3は、腹膜播種を起こしにくい親株OCUM-2Mから誘導された亜株である。親株OCUM-2Mは、スキルス胃癌原発巣から樹立された胃癌細胞株で、腹膜播種はヌードマウスの腹腔に接種しても腹膜播種を起こすこ

とは稀である。一方その亜株OCUM-2MD3は、 5×10^6 個以上の細胞数で100%の播種形成が見られる(Br. J. Cancer 72:1200-1210, 1995, Clin & Exp Metastasis 14:43-54, 1996)。OCUM-2MD3は、親株OCUM-2Mをマウスの腹腔に接種し、腹膜播種を起こした細胞を回収して再び培養系で増殖させ、更にこれをヌードマウスの腹腔に接種して認められた腹膜播種巣から樹立した細胞株である。これまでに樹立された胃癌細胞株の多くは腹膜播種を起こさないので、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3は胃癌の腹膜播種の代表的なモデルとして用いられている。

高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3を実験材料として、腹膜播種に関連すると思われるいくつかの分子の存在が明らかにされた。たとえば細胞接着因子であるE-カドヘリンは、親株OCUM-2Mに比べてOCUM-2MD3において低下している。このことは、OCUM-2MD3が細胞間接着が弱く、そのため原発巣から離脱しやすいことを裏付けている。また、癌細胞の浸潤に密接に関連している細胞外マトリックス分解酵素MMPの一つであるMMP-1の産生が、親株OCUM-2Mに比べてOCUM-2MD3において上昇している。MMP-1は胃壁の構成タンパク質に特徴的なタイプ1コラーゲンやタイプ3コラーゲンに作用する酵素であることから、MMP-1の産生は原発巣から腹腔への離脱傾向を裏付けているといえる。事実、マトリゲルへの浸潤能をinvasion assayによって比較すると、OCUM-2MD3は親株OCUM-2Mに比べて高い浸潤能を示す。

他方、癌細胞の腹膜への接着を支える因子として、CD44Hや β_1 -インテグリンファミリーの存在が明らかにされた。これらの接着因子は、OCUM-2MD3で発現が亢進している。腹膜中皮に存在するヒアルロン酸がCD44の、そして腹膜間質を構成するフィブロネクチンやラミニンが β_1 -インテグリンファミリーのリガンドとして機能し、OCUM-2MD3の腹膜への接着を助けている可能性が示唆されている(Jap J. Cancer Res. 87:1235-1244, 1996, Br. J. Cancer 74:1406-1412, 1996)。

このように腹膜播種を裏付ける様々な因子の存在が明らかにされてきたが、その治療にはなかなか結びついていないといわざるを得ない。したがって、腹膜播種の治療に結びつく可能性を持った新たな因子の解明が望まれている。

発明の開示

本発明の課題は、胃組織の癌化や、胃癌の悪性度を反映してその発現レベルが変化する遺伝子の提供である。

本発明者らは、胃癌細胞と正常細胞との間で遺伝子の発現状態を比較することによって、癌細胞で発現レベルの変化している遺伝子を見出すことができると考えた。現在、数万個から十万個と推定されているヒト遺伝子の中で、どの遺伝子の発現が胃癌で変化しているのかを明らかにするためには、多数の遺伝子の発現レベルを同時に比較解析できる技術が必須である。遺伝子の発現レベルの比較は、一般にディファレンシャル解析と呼ばれる解析手法である。ディファレンシャル解析には、従来northern blot法やRT-PCRが用いられていた。しかし、細胞で発現している全ての遺伝子を対象として、このような手法を適用するためには、莫大な労力と時間が必要になり、現実的でない。この他、遺伝子の発現状態の比較方法として、Differential Display法（DD法）も公知である。しかしDD法は、最終的に同定できる遺伝子の数が必ずしも多くないうえに高度な技術と多くの労力が必要とされる。

DNAチップは、予め塩基配列がわかっている数万から数10万種類におよぶオリゴヌクレオチド、あるいはポリヌクレオチドを高密度に固定したアレイで構成される。分析すべきターゲットを蛍光標識し、このプローブアレイと接触させる。ターゲットには、一般に様々な細胞に由来するcDNAや、cDNAを鋳型として合成されたcRNAが用いられる。ハイブリダイズ後にアレイを良く洗浄し、アレイ上に残る蛍光標識をスキャンして、どのプローブにターゲットがハイブリダイズしているのか、またその量はどの程度であるのかが明らかにされる。一連の操作は、ごく短時間に、しかも簡単に行うことができる。また1回の分析で数万から数10万種類におよぶ塩基配列について、個々の塩基配列の有無と量に関する情報が得られる。このようにして得られた情報は、発現プロファイル(expression profile)

と呼ばれている。ディファレンシャル解析をDNAチップによって行うには、異なる細胞の間で発現プロファイルを比較し、発現パターンの違っている塩基配列を選択すれば良い。

胃癌細胞に特異的に見出される遺伝子の発現レベルの変化を検出するには、例えば、胃癌細胞と正常細胞の組み合わせ、または原発性の胃癌細胞と転移癌細胞の組み合わせなどにおいて、遺伝子の発現レベルを比較し、胃癌細胞または悪性化において特異的に発現レベルが変化する遺伝子を同定する。このような考えかたに基づいて、本発明者らは、癌患者から採取した癌組織については、その癌腫と同じ組織に由来する正常組織や、転移腫瘍組織との比較を行った。

あるいは、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3に特異的に発現している遺伝子を単離すれば、スキルス胃癌の腹膜播種に関連する因子を明らかにできる可能性がある。本発明者らは、基本的な遺伝形質が共通でありながら、腹膜播種を引き起こす能力においてのみ相違する親株であるOCUM-2Mとの比較を行うことによって、効率的な遺伝子の単離が行えるのではないかと考えた。

こうして選択された塩基配列をもとに、cDNAライブラリーをスクリーニングすれば、最終的に癌細胞で特異的に発現レベルが変化している遺伝子を単離することができる。cDNAライブラリーは、癌細胞や正常細胞から公知の方法によって合成することができる。しかし、一般的な方法で合成されたcDNAライブラリーを用いたクローニングと、遺伝子の構造決定は、複数のポジティブクローンの配列決定とアセンブルを繰り返す時間のかかる作業である。本出願人は、cDNAライブラリーとして本出願人が構築した全長cDNAライブラリーとその塩基配列を収録したデータベースを利用することにより、このスクリーニングをきわめて迅速に行えることを見出した。

本発明に用いた全長cDNAライブラリーは、オリゴキャップ法 [K. Maruyama and S. Sugano, Gene, 138: 171-174 (1994); Y. Suzuki et al., Gene, 200: 149-156 (1997)] を応用して合成した全長率の高いものである。その5' 側塩基配列の全てと、

3' 側塩基配列の大部分が明らかにされている。またその全長塩基配列についても、順次明らかにされつつある。そしてこの明らかにされた部分塩基配列、あるいは全長塩基配列と、公知の遺伝子やESTの塩基配列とのホモロジーサーチの結果が、すでにデータベース化されている。

このデータベースを用いて、DNAチップによるディファレンシャル解析の結果に基づいて選択された塩基配列に一致する塩基配列を備えたクローンを見つけ出せば、ハイブリダイゼーションによるクローニングによらず全長cDNAクローンの取得が可能である。本発明は、このような経緯を経て完成された。すなわち本発明は、次のポリヌクレオチド、およびこのポリヌクレオチドによってコードされるタンパク質、並びにそれらの用途に関する。

表 1. 本発明による塩基配列とアミノ酸配列の配列番号の対応

| 配列名 | 塩基配列 | アミノ酸配列 |
|----------------|------|--------|
| C-HEMBA1002150 | 1 | 2 |
| C-HEMBA1002417 | 3 | 4 |
| C-HEMBA1002475 | 5 | 6 |
| C-HEMBA1002716 | 7 | |
| C-HEMBA1003615 | 8 | 9 |
| C-HEMBA1003805 | 10 | 11 |
| C-HEMBA1004055 | 12 | 13 |
| C-HEMBA1004669 | 14 | 15 |
| C-HEMBA1004889 | 16 | 17 |
| C-HEMBA1005621 | 18 | 19 |
| C-HEMBA1006676 | 20 | 21 |
| C-HEMBA1007085 | 22 | 23 |
| C-HEMBB1001294 | 24 | 25 |
| C-HEMBB1001482 | 26 | 27 |
| C-HEMBB1002600 | 28 | 29 |
| C-MAMMA1000284 | 30 | 31 |
| C-MAMMA1000416 | 32 | 33 |
| C-MAMMA1001388 | 34 | 35 |
| C-MAMMA1002143 | 36 | 37 |
| C-MAMMA1002351 | 38 | 39 |
| C-MAMMA1002461 | 40 | 41 |
| C-NT2RM1000039 | 42 | 43 |
| C-NT2RM1000055 | 44 | 45 |
| C-NT2RM1000355 | 46 | 47 |
| C-NT2RM1001105 | 48 | 49 |
| C-NT2RM2000101 | 50 | 51 |
| C-NT2RM2000522 | 52 | 53 |
| C-NT2RM2001345 | 54 | 55 |
| C-NT2RM2001637 | 56 | 57 |
| C-NT2RM2001696 | 58 | 59 |
| C-NT2RM4000027 | 60 | 61 |
| C-NT2RM4000514 | 62 | 63 |
| C-NT2RM4001155 | 64 | 65 |
| C-NT2RM4001382 | 66 | 67 |
| C-NT2RM4002390 | 68 | 69 |
| C-NT2RM4002593 | 70 | |
| C-NT2RP2000289 | 71 | 72 |
| C-NT2RP2000459 | 73 | 74 |
| C-NT2RP2001327 | 75 | 76 |
| C-NT2RP2001420 | 77 | 78 |
| C-NT2RP2002193 | 79 | 80 |
| C-NT2RP2002208 | 81 | 82 |
| C-NT2RP2002606 | 83 | 84 |
| C-NT2RP2003272 | 85 | 86 |
| C-NT2RP2004013 | 87 | 88 |
| C-NT2RP2004242 | 89 | 90 |
| C-NT2RP2005360 | 91 | 92 |
| C-NT2RP3000109 | 93 | 94 |
| C-NT2RP3000605 | 95 | 96 |
| C-NT2RP3001730 | 97 | 98 |
| C-NT2RP3002273 | 99 | 100 |

| | | |
|----------------|-----|-----|
| C-NT2RP3002399 | 101 | 102 |
| C-NT2RP3002818 | 103 | 104 |
| C-NT2RP3002948 | 105 | 106 |
| C-NT2RP3003290 | 107 | 108 |
| C-NT2RP3003876 | 109 | 110 |
| C-NT2RP3004041 | 111 | 112 |
| C-NT2RP4000973 | 113 | 114 |
| C-OVARC1000781 | 115 | 116 |
| C-OVARC1001270 | 117 | 118 |
| C-OVARC1001726 | 119 | 120 |
| C-PLACE1000133 | 121 | 122 |
| C-PLACE1000786 | 123 | 124 |
| C-PLACE1001845 | 125 | 126 |
| C-PLACE1004506 | 127 | 128 |
| C-PLACE1005409 | 129 | |
| C-PLACE1005603 | 130 | 131 |
| C-PLACE1006037 | 132 | 133 |
| C-PLACE1006469 | 134 | 135 |
| C-PLACE1008947 | 136 | 137 |
| C-PLACE3000242 | 138 | 139 |
| C-PLACE4000052 | 140 | 141 |
| C-THYRO1000401 | 142 | 143 |
| C-Y79AA1000258 | 144 | 145 |
| C-Y79AA1000784 | 146 | 147 |
| C-Y79AA1001781 | 148 | 149 |

(1) 下記 (a) から (d) のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

(a) 表 1 に示す配列番号に記載された塩基配列のいずれかを含むポリヌクレオチド、

(b) 表 1 に示す配列番号に記載のアミノ酸配列のいずれかからなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

(c) 表 1 に示す配列番号に記載のいずれかのアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および／または付加したアミノ酸配列からなり、前記アミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

(d) 表 1 に示す配列番号に記載されたいずれかの塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされ、前記塩基配列によってコードされるアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

- [2] [1] に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質の部分ペプチドをコードするポリヌクレオチド。
- [3] [1]、または[2] に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質、または部分ペプチド。
- [4] [1]、または[2] に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
- [5] [1]、もしくは[2] に記載のポリヌクレオチド、または[4] に記載のベクターを保持する形質転換体。
- [6] [5] に記載の形質転換体を培養し、発現産物を回収する工程を含む、[3] に記載の蛋白質または部分ペプチドの製造方法。
- [7] [1]、または[2] に記載のポリヌクレオチド、またはその相補鎖に相補的な塩基配列からなる少なくとも15塩基の長さを有するポリヌクレオチド。
- [8] [3] に記載の蛋白質または部分ペプチドに対する抗体。
- [9] [3] に記載の蛋白質と、[8] に記載の抗体の免疫学的な反応を観察する工程を含む、免疫学的測定方法。
- [10] 次の工程を含む、[1] に記載のポリヌクレオチドの発現を制御する化合物をスクリーニングする方法。
- (a) 胃癌細胞に候補化合物を接触させる工程、
 - (b) 表1に示す配列番号に記載された塩基配列からなる遺伝子の胃癌細胞における発現レベルを、対照と比較する工程、
 - (c) 遺伝子の発現レベルを変化させる候補化合物を選択する工程、
- [11] 胃癌の発生および／または転移の制御における[10]に記載の方法によって得ることができる化合物の使用。
- [12] 次の工程を含む、胃癌の検出方法。
- (a) 生体試料中の[1] に記載のポリヌクレオチドを測定する工程、
 - (b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程

〔13〕 次の工程を含む、胃癌の検出方法。

(a) 生体試料中の〔3〕に記載の蛋白質および／または部分ペプチドを測定する工程、

(b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程

本発明は、胃癌に関連する単離されたポリヌクレオチドに関する。本発明によって提供されるポリヌクレオチドは、正常組織と比較して、胃癌において特異的に発現レベルが変化している遺伝子、および／または原発性癌組織と比較して、転移癌において発現レベルが変化している遺伝子の塩基配列からなる。あるいは本発明によって提供されるポリヌクレオチドは、腹膜播種を起こしやすい胃癌細胞において特異的に発現レベルが変化している遺伝子の塩基配列からなる。

本発明においてポリヌクレオチドは、DNA、cDNAの他、ゲノムDNA、化学合成DNAあるいはRNAを含む。また本発明のポリヌクレオチドは、天然のヌクレオチドのみならず、人工的に合成されたヌクレオチド誘導體や、標識を導入したヌクレオチドを含むことができる。本明細書においては、ポリヌクレオチドに対して、用語オリゴヌクレオチドを用いる。オリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド鎖が短いことを意味する。用語ポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチドも含まれる。また本発明のポリヌクレオチドは、例えば、ベクター、自律複製性のプラスミドもしくはウイルス、または原核生物もしくは真核生物のゲノムDNAに組み込まれた組換えポリヌクレオチド、またはその他の配列とは独立した分離分子として存在する組換えポリヌクレオチドを含む。更に本発明のポリヌクレオチドは、付加的なポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部として存在する組換えDNAも含まれる。

本発明によって提供されるポリヌクレオチドの望ましい塩基配列の配列番号は表1に示したとおりである。表1には、これらの塩基配列がコードする蛋白質のアミノ酸配列の配列番号を併記した。本発明は、これらアミノ酸配列からなる蛋

白質を提供する。

表 1 に示された遺伝子の発現プロファイルは表 2 に示されている。表 2 の選出法に「5a」(#5で#3の5倍以上)、「5b」(#5で#12の5倍以上)、または「5c」(#5で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上)と記載された配列で示される遺伝子は、SCID マウスの皮下へ移植後に腫瘍を形成したヒト胃癌細胞(#5)における発現が、正常胃粘膜(#3または#12)での発現よりも 5 倍以上、あるいは正常胃粘膜#3および#12双方に対して 3 倍以上増加したことを示しており、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。この条件に該当する遺伝子は、以下のものが含まれる: MAMMA1002351、NT2RP2001327、NT2RM1000355、Y79AA1000784、NT2RM4001382、NT2RM1000055、PLACE1008947、MAMMA1002461、NT2RP3004041、NT2RM2001637、PLACE1006469、HEMBA1002417、HEMBB1002600、NT2RM4002390、Y79AA1000258、NT2RM4000027、MAMMA1002143、NT2RP4000973、NT2RP2005360、HEMBA1003615、NT2RM2000522、HEMBA1002475、NT2RP2004242、NT2RM2001637、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1004889、HEMBA1006676、NT2RM2001696、NT2RM4002593、Y79AA1001781、HEMBA1003805、NT2RP2002606、NT2RP3003876、OVARC1001726、HEMBA1005621、NT2RM4000514、NT2RM1000039、MAMMA1001388、MAMMA1001388、HEMBA1007085、NT2RM2001345、NT2RP2000289、NT2RM4001155、および NT2RP3002818。

また、表 2 の選出法に「13a」(#13で#3の5倍以上)、「13b」(#13で#12の5倍以上)、「13c」(#13で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上)、「18a」(#18で#3の5倍以上)、「18b」(#18で#12の5倍以上)、または「18c」(#18で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上)と記載された配列で示される遺伝子は、胃癌に由来する臨床検体(#13または#18)における発現が、正常胃粘膜(#3または#12)での発現よりも 5 倍以上増加、あるいは、正常胃粘膜#3および#12双方に対して 3 倍以上増加したことを示しており、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。この条件に該当する遺伝子は以下のものが含まれる: HEMBB1001294、NT2RP2001327、NT2RP2000459、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1002716、NT2RP2002193、

THYR01000401、OVARC1000781、PLACE4000052、NT2RP3002948、PLACE1001845、PLACE1006469、PLACE1000786、MAMMA1000416、PLACE1005409、NT2RP3000605、NT2RM4002390、HEMBA1004055、PLACE1005603、HEMBA1002150、Y79AA1000258、NT2RM1001105、PLACE1006037、OVARC1001270、HEMBB1001482、MAMMA1000416、PLACE1000133、NT2RP2004013、PLACE3000242、NT2RP3003290、HEMBA1006676、NT2RM2001696、HEMBA1007085、NT2RP3000109、PLACE1004506、PLACE1005409、NT2RP2003272、HEMBA1005621、NT2RP3002399、NT2RM2000101、NT2RP2002208、NT2RM4000514、NT2RP3002273、MAMMA1000284、HEMBA1007085、HEMBA1004669、および NT2RP3001730。

また、表2の選出法に「14」と記載された配列で示される遺伝子は、胃癌組織(#13)よりリンパ節転移巣(#14)で5倍以上発現が上昇したことを示しており、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。この条件に該当する遺伝子は以下のものが含まれる：NT2RP2001420、PLACE1000786、および MAMMA1002143。

また、配列番号：34（アミノ酸配列は配列番号：35）で示される配列を持つ遺伝子「MAMMA1001388」は、胃癌細胞株OCUM-2M（2M）より腹膜播種能の高い胃癌細胞株OCUM-2MD3（D3）で5倍以上発現が上昇することが判明し、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。

本発明のポリヌクレオチドとしては、本発明の蛋白質をコードしうるものであれば、その形態に特に制限はなく、cDNAの他、ゲノムDNA、化学合成DNAなども含まれる。また、本発明の蛋白質をコードしうる限り、遺伝暗号の縮重に基づく任意の塩基配列を有するポリヌクレオチドが含まれる。本発明の蛋白質をコードするポリヌクレオチドは、上記のように、表1に示した配列番号に記載のポリヌクレオチド配列もしくはその一部をプローブとしたハイブリダイゼーション法やこれらポリヌクレオチド配列の情報に基づき設計したプライマーを用いたPCR法等の常法により単離することができる。

表1に示す配列番号に記載された塩基配列からなる遺伝子は、リンパ節転移や

腹膜播種を伴う悪性度の高い胃癌細胞において見出された遺伝子を含む。したがって、これらの遺伝子の発現を解析すれば癌細胞の悪性度を知ることができる。癌細胞の悪性度は、治療戦略を考えるうえで重要な情報を与える。

胃癌の腹膜播種は、胃壁内部にある原発巣の組織が増殖・浸潤して胃壁外部に達し、更に漿膜から離脱して腹腔内に遊離する第一の段階と、遊離した細胞が腹膜に着床して増殖する第二の段階とによって成立すると考えられている。本発明の遺伝子は、高腹膜播種細胞株から単離されていることから、この一連の過程を支える重要な遺伝子であると考えられる。したがって、この遺伝子の機能を阻害することによって、腹膜播種の予防や治療が可能となる。また、高腹膜播種細胞株に特異的な本発明の遺伝子や、この遺伝子によってコードされる蛋白質は、胃癌の悪性度を評価する指標として有用である。ここで言う胃癌の悪性度とは、腹膜播種やリンパ節転移を起こす能力を意味する。

更に、本発明の遺伝子は胃癌の他、膵癌などの胃癌以外の消化器癌においても同様に、腹膜播種の予防や治療、あるいは悪性度の予測に用いることができる。腹膜播種やリンパ節転移は様々な消化器癌に共通して見られる悪性化のステップであることから、本発明の遺伝子が他の固形癌においても同様の役割を果たしている可能性が考えられる。

例えば、配列番号：32（アミノ酸配列は配列番号：33）で示される配列を持つ遺伝子「MAMMA1000416」は、胃癌のみならず肝癌においても発現が有意に上昇することが判明した。このことから、本発明の遺伝子が、胃癌以外の固形癌においても発現が上昇している可能性が示唆される。

以上のように、本発明によって提供される塩基配列からなる遺伝子は、胃癌の発生や悪性度に密接に関連していると言える。そのため、この遺伝子の発現や、この遺伝子によってコードされる蛋白質の作用を調節することによって、胃癌の診断や治療を達成できるものと考えられる。すなわち本発明は、本発明の遺伝子発現を調節することができる化合物と、そのスクリーニング方法に関する。

より具体的には、生体内における本発明の遺伝子の発現を阻害すれば、胃癌の進行や転移を効果的に抑制できる。あるいは、本発明の蛋白質の働きを阻害することによっても、胃癌の抑制が達成される。前記遺伝子の発現を阻害するには、アンチセンス核酸医薬や、あるいはその転写調節領域を明らかにした上でデコイ核酸によって発現を阻害することができる。蛋白質の働きそのものを阻害するには、この蛋白質に結合する化合物の投与によって活性部位の立体構造に変化を与えたり、あるいは蛋白質とその標的化合物との結合を妨げることが有効である。

更に、本発明の蛋白質を利用して癌ワクチンを開発することもできる。すなわち本発明の遺伝子によってコードされる蛋白質やその断片に対する免疫応答を誘導することができれば、胃癌に対する免疫学的な排除機構を強めることができる。このような免疫応答は、生体内に本発明による蛋白質やその断片を生体内に投与することによって引き起こされる。生体内への蛋白質の投与は、蛋白質の投与や、それをコードする遺伝子の導入と発現によって達成できる。必要な遺伝子は、アデノウイルスベクターや、レトロウイルスベクターを用い、公知の方法に基づいて導入することができる。

本発明のポリヌクレオチドがコードする蛋白質は、組み換え蛋白質として、また天然の蛋白質として調製することが可能である。組み換え蛋白質は、例えば、後述するように本発明の蛋白質をコードするDNAを挿入したベクターを適当な宿主細胞に導入し、形質転換体内で発現した蛋白質を精製することにより調製することが可能である。また、インビトロトランスレーション（例えば、「On the fidelity of mRNA translation in the nuclease-treated rabbit reticulocyte lysate system. Dasso, M. C., Jackson, R. J. (1989) Nucleic Acids Res. 17:3129-3144」参照）などにより本発明の蛋白質を調製することも可能である。一方、天然の蛋白質は、例えば、後述する本発明の蛋白質に対する抗体を結合したアフィニティーカラムを利用して調製することができる（Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. Jhon Wily & Sons

Section 16.1-16.19)。アフィニティー精製に用いる抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。

また、本発明には、表 1 に示した配列番号に記載されたアミノ酸配列からなる蛋白質のみならず、これらの蛋白質と機能的に同等な蛋白質をコードするポリヌクレオチドが含まれる。ここで「機能的に同等」とは、対象となる蛋白質が、胃癌の癌化または悪性化をもたらしていることを指し、このような場合、その蛋白質は本発明の蛋白質と機能的に同等であると言える。

本発明において、ある遺伝子が癌化をもたらすことは、その遺伝子の形質転換による宿主細胞の癌化を観察することにより確認することができる。あるいは悪性化をもたらすことは、転移能を持たない癌細胞株にその遺伝子を形質転換転したときに、細胞が転移能を獲得することを指標として確認することができる。たとえば胃癌細胞株 OCUM-2M のように、転移能の低い、あるいは無い細胞株を、遺伝子の形質転換による悪性化の観察に利用することができる。

これら本実施例において同定された蛋白質と機能的に同等な蛋白質は、当業者であれば、例えば、蛋白質中のアミノ酸配列に変異を導入する方法（例えば、部位特異的変異誘発法 (Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. Jhon Wiley & Sons Section 8.1-8.5)）を利用して調製することができる。また、このような蛋白質は、自然界におけるアミノ酸の変異により生じることもある。本発明には、このように本実施例において同定された蛋白質と同等の機能を有する限り、そのアミノ酸配列（表 1 の配列番号に記載）において 1 もしくは数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および／もしくは付加などにより異なる蛋白質も含まれる。

蛋白質におけるアミノ酸の変異数や変異部位は、その機能が保持される限り制限はない。変異数は、典型的には、全アミノ酸の 10% 以内であり、好ましくは全アミノ酸の 5% 以内であり、さらに好ましくは全アミノ酸の 1% 以内である。置換されるアミノ酸は、蛋白質の機能の保持の観点から、置換前のアミノ酸と似た性

質を有するアミノ酸であることが好ましい。例えば、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Met、Phe、Trpは、共に非極性アミノ酸に分類されるため、互いに似た性質を有すると考えられる。また、非荷電性としては、Gly、Ser、Thr、Cys、Tyr、Asn、Glnが挙げられる。また、酸性アミノ酸としては、AspおよびGluが挙げられる。また、塩基性アミノ酸としては、Lys、Arg、Hisが挙げられる。

また、本実施例において同定された蛋白質と機能的に同等な蛋白質は、当業者に周知のハイブリダイゼーション技術あるいは遺伝子増幅技術を利用して単離することも可能である。即ち、当業者であれば、ハイブリダイゼーション技術 (Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. Jhon Wily & Sons Section 6.3-6.4) を用いて本実施例において同定されたポリヌクレオチドの塩基配列 (表1) またはその一部をもとにこれと相同性の高いポリヌクレオチドを単離して、該ポリヌクレオチドから機能的に同等な蛋白質を得ることは、通常行いうることである。本発明には、本実施例において同定された蛋白質と同等の機能を有する限り、これら蛋白質をコードするポリヌクレオチドとハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる蛋白質も含まれる。機能的に同等な蛋白質を単離する生物としては、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ウシ等の脊椎動物が挙げられるが、これらに制限されない。このような遺伝子は、その塩基配列において、高度な相同性を維持している。

機能的に同等な蛋白質をコードするポリヌクレオチドを単離するためのハイブリダイゼーションのストリンジェントな条件は、洗浄のための条件として通常「1xSSC、0.1% SDS、37℃」程度であり、より厳しい条件としては「0.5xSSC、0.1% SDS、42℃」程度であり、さらに厳しい条件としては「0.1xSSC、0.1% SDS、65℃」程度であり、ハイブリダイゼーションの条件が厳しくなるほどプローブ配列と高い相同性を有するポリヌクレオチドの単離を期待しうる。但し、上記SSC、SDSおよび温度の条件の組み合わせは例示であり、当業者であれば、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを決定する上記若しくは他の要素 (例えば、プロー

ブ濃度、プローブの長さ、ハイブリダイゼーション反応時間など）を適宜組み合わせることにより、上記と同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

このようなハイブリダイゼーション技術を利用して単離される蛋白質は、表1に示した配列番号に記載の本発明の蛋白質と比較して、通常、そのアミノ酸配列において高い同一性を有する。高い同一性とは、少なくとも60%以上、好ましくは70%以上、さらに好ましくは80%以上（例えば、90%以上）の配列の同一性を指す。本発明におけるアミノ酸配列や塩基配列の同一性は、Karlin and AltschulによるアルゴリズムBLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993)によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている(Altschul et al. J. Mol. Biol. 215: 403-410, 1990)。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 100、wordlength = 12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターはたとえば score = 50、wordlength = 3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.)。

また、遺伝子増幅技術(PCR) (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 6.1-6.4)を用いて、本実施例において同定された塩基配列(表1)の一部をもとにプライマーを設計し、これら塩基配列またはその一部と相同性の高い塩基配列を含むポリヌクレオチド断片を単離して、これをもとに本実施例において同定された遺伝子によってコードされる蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることも可能である。

また、機能的に同等な蛋白質をコードするポリヌクレオチドは、上記のようなハイブリダイゼーションやPCRを行う以外に、計算機上のホモロジー検索で単離することも可能である。本発明のタンパク質をコードするポリヌクレオチドとして

は、表 1 に示した塩基配列を含む遺伝子に対して種間で保存されている相同遺伝子、あるいはこれらと相同ではないが類似遺伝子であって、表 1 に示した配列番号に記載の本発明の蛋白質に対して高い相同性を有するものであってもよい。

本発明は、また、本発明の蛋白質の部分ペプチドを提供する。部分ペプチドは、本発明の蛋白質に対する抗体を得るための免疫原として有用である。特に、他の蛋白質との相同性が低い、本発明の蛋白質に固有のアミノ酸配列を含む部分ペプチドは、本発明の蛋白質に対して特異性の高い抗体を与える免疫原として期待される。

本発明の部分ペプチドは、少なくとも7アミノ酸、好ましくは9アミノ酸以上、より好ましくは12アミノ酸以上、より好ましくは15アミノ酸以上のアミノ酸配列からなる。本発明の部分ペプチドは、例えば、遺伝子工学的手法、公知のペプチド合成法、あるいは本発明の蛋白質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造する。

また本発明は、前記ポリヌクレオチドのいずれかを含有する発現ベクターを提供するものである。本発明のベクターとしては、挿入したポリヌクレオチドを安定に保持するものであれば特に制限されず、例えば 宿主に大腸菌を用いるのであれば、クローニング用ベクターとしてはpBluescriptベクター(Stratagene社製)などが好ましい。本発明のタンパク質を生産する目的においてベクターを用いる場合には、特に発現ベクターが有用である。発現ベクターとしては、試験管内、大腸菌内、培養細胞内、生物個体内でタンパク質を発現するベクターであれば特に制限されないが、例えば、試験管内発現であればpBESTベクター(プロメガ社製)、大腸菌であればpETベクター (Novagen社製)、培養細胞であればpME18S-FL3ベクター (GenBank Accession No. AB009864)、生物個体であればpME18Sベクター (Mol Cell Biol. 8:466~472(1988)) などが好ましい。ベクターへの本発明のポリヌクレオチドの挿入は常法により制限酵素サイトを用いたりリガーゼ反応により行うことができる (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al.

(1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4~11.11)。

さらに、本発明は、前記ポリヌクレオチド、あるいは前記いずれかの発現ベクターを保持する形質転換体、並びにその形質転換体を培養し、その培養物から本発明の蛋白質を単離することからなる、本発明の蛋白質の製造方法に関するものである。本発明のベクターが導入される宿主細胞としては特に制限はなく、目的に応じて種々の宿主細胞が用いられる。タンパク質を高発現させるための真核細胞としては、例えば、COS細胞、CHO細胞などを例示することができる。

宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法 (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9)、リポフェクタミン法 (GIBCO-BRL社製)、マイクロインジェクション法などの方法で行うことが可能である。本発明は、上記の方法で製造された蛋白質、あるいはその部分ペプチドを提供するものである。

本発明の実施に必要な、DNAのクローニング、各プラスミドの構築、宿主のトランスフェクション、形質転換体の培養および培養物からの蛋白質の回収等の操作は、当業者既知の方法、あるいは文献記載の方法 [Molecular Cloning, T. Maniatis et.al, CSH Laboratory (1983) DNA Cloning, DM. Glover, IRL PRESS (1985) 他] に準じて行なうことができる。

また、本発明の宿主細胞には、本発明の遺伝子の機能解析や、この遺伝子を利用したその機能阻害剤のスクリーニングのために用いる目的の細胞も含まれる。宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法 (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9)、リポフェクタミン法 (GIBCO-BRL社製)、マイクロインジェクション法などの方法で行うことが可能である。形質転換体からの本発明の蛋白質の調製は、当業者に公知の蛋白質の分離・精製法を利用して行なうことができる。

本発明はまた、表1に示した配列番号に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖に相補的な少なくとも15ヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを提供する。ここで「相補鎖」とは、A:T、G:Cの塩基対からなる2本鎖ポリヌクレオチドの一方の鎖に対する他方の鎖を指す。また、「相補的」とは、少なくとも15個の連続したヌクレオチド領域で完全に相補配列である場合に限られず、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%以上の塩基配列上の相同性を有すればよい。相同性を決定するためのアルゴリズムは本明細書に記載したものを使用すればよい。

このようなポリヌクレオチドは、本発明の蛋白質をコードするDNAやRNAを検出、単離するためのプローブとして、また、本発明のポリヌクレオチドを増幅するためのプライマーとして利用することが可能である。プライマーとして用いる場合には、通常、15bp~100bp、好ましくは15bp~35bpの鎖長を有するオリゴヌクレオチドが用いられる。また、プローブとして用いる場合には、本発明のポリヌクレオチドの少なくとも一部若しくは全部の配列を有し、少なくとも15bpの鎖長のポリヌクレオチドが用いられる。プライマーとして用いる場合、3'側の領域は相補的である必要があるが、5'側には制限酵素認識配列やタグなどを付加することができる。

本発明のポリヌクレオチドは、本発明の遺伝子の発現を検出、あるいは定量するために利用することができる。例えば、本発明のポリヌクレオチドをプローブやプライマーとして用いたノーザンハイブリダイゼーションやRT-PCRにより、発現レベルを検査したり、本発明のポリヌクレオチドをプライマーとして用いたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によりゲノムDNA-PCRやRT-PCRにより本発明のDNAやその発現制御領域を増幅し、RFLP解析、SSCP、シーケンシング等の方法により、配列の異常を検査・診断することもできる。

また、「表1に示した配列番号に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖に相補的な少なくとも15ヌクレオチドを含むDNA」には、本発明の

遺伝子の発現を抑制するためのアンチセンスDNAが含まれる。アンチセンスDNAは、アンチセンス効果を引き起こすために、少なくとも15bp以上、好ましくは100bp、さらに好ましくは500bp以上の鎖長を有し、通常、3000bp以内、好ましくは2000bp以内の鎖長を有する。

このようなアンチセンスDNAには、胃癌の進行や転移の遺伝子治療に応用することができる。該アンチセンスDNAは、表1に示した配列番号に記載のDNAの配列情報を基にホスホロチオエート法 (Stein, 1988 Physicochemical properties of phosphorothioate oligodeoxynucleotides. Nucleic Acids Res 16, 3209-21 (1988)) などにより調製することが可能である。

本発明のポリヌクレオチドまたはアンチセンスDNAは、遺伝子治療に用いる場合には、例えば、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターなどのウイルスベクターやリポソームなどの非ウイルスベクターなどを利用して、ex vivo法やin vivo法などにより患者へ投与を行う。

本発明は、また、本発明の蛋白質に結合する抗体を提供する。本発明の抗体の形態には特に制限はなく、ポリクローナル抗体やモノクローナル抗体または抗原結合性を有するそれらの一部も含まれる。また、全てのクラスの抗体が含まれる。さらに、本発明の抗体には、ヒト化抗体などの特殊抗体も含まれる。

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体の場合には、常法に従いアミノ酸配列に相当するオリゴペプチドを合成して家兎に免疫することにより得ることが可能であり (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.12~11.13)、一方、モノクローナル抗体の場合には、常法に従い大腸菌で発現し精製した蛋白質を用いてマウスを免疫し、脾臓細胞と骨髓腫細胞を細胞融合させたハイブリドーマ細胞の中から得ることができる (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4~11.11)。

本発明の蛋白質に結合する抗体は、本発明の蛋白質の精製に加え、例えば、こ

れら蛋白質の発現異常や構造異常の検査・診断に利用することも考えられる。具体的には、例えば組織、血液、または細胞などから蛋白質を抽出し、ウェスタンブロッティング、免疫沈降、ELISA等の方法による本発明の蛋白質の検出を通して、癌の同定、あるいはその悪性度を検査・診断することができる。

たとえば、組織における本発明のポリヌクレオチドや、蛋白質、あるいはそれらの断片の存在は、その組織が胃癌に由来するものであることを示している。あるいは、血液における本発明のポリヌクレオチドや、蛋白質、あるいはそれらの断片の存在は、胃癌の指標とすることができる。本発明のポリヌクレオチドは、いずれも胃癌細胞で発現の増加が確認された遺伝子の塩基配列からなっている。したがって、本発明のポリヌクレオチドや蛋白質、あるいはそれらの断片を測定し、健常者の測定値と比較して増加している場合に、胃癌の存在が疑われる。胃癌の検出を可能とする本発明のポリヌクレオチドとしては、たとえばmRNAを挙げることができる。血液や細胞中のmRNAをRT-PCRなどの手法によって検出することにより、胃癌の指標とすることができる。あるいは本発明の蛋白質やその断片を、公知の免疫学的な手法によって検出することによって、胃癌の指標とすることができる。

本発明の蛋白質に結合する抗体は、胃癌の治療などの目的に利用することも考えられる。本発明の遺伝子によってコードされる蛋白質は、胃癌や、悪性度の高い胃癌において高度に発現している。したがって、この蛋白質を認識する抗体は、胃癌の免疫学的な治療に有用である。あるいは、この蛋白質を標的とする抗体に抗癌剤を結合させることにより、胃癌のミサイル療法を実現できる。抗体を患者の治療目的で用いる場合には、ヒト抗体またはヒト化抗体が免疫原性の少ない点で好ましい。ヒト抗体は、免疫系をヒトのものと入れ換えたマウス（例えば、

「Functional transplant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice, Mendez, M.J. et al. (1997) Nat. Genet. 15:146-156」参照）に免疫することにより調製することができる。また、ヒト化

抗体は、モノクローナル抗体の超可変領域を用いた遺伝子組み換えによって調製することができる(Methods in Enzymology 203, 99-121(1991))。

あるいは本発明は、本発明の蛋白質の活性を調節する化合物のスクリーニング方法を提供する。本発明の遺伝子が胃癌の癌化や悪性度に関連することから、当該遺伝子の産物の活性を抑制する化合物は胃癌やその転移を抑制する治療薬として有用である。このスクリーニング方法は、次の工程を含む。

- (a) 胃癌細胞に候補化合物を接触させる工程、
- (b) 表 1 に示す配列番号に記載の塩基配列からなる遺伝子の胃癌細胞における発現レベルを、対照と比較する工程、
- (c) 遺伝子の発現レベルを低下させる候補化合物を選択する工程、

本発明のスクリーニングに用いる胃癌細胞は、患者から採取された胃癌組織や、胃癌細胞株を用いることができる。あるいは、本発明の遺伝子を人為的に導入した細胞をスクリーニングの材料に用いることもできる。本発明のスクリーニング方法においては表 1 に示す配列番号に記載の塩基配列からなる遺伝子の発現レベルを指標とする。本発明の遺伝子は、胃癌の癌化や、転移に関連していることから、スクリーニングの目的に応じて、細胞の種類や指標とすべき遺伝子を選択することができる。たとえば、癌化の調節を目的とする場合には、胃癌において高度な発現が観察された遺伝子を指標とすることができる。あるいは、転移を制御することができる化合物のスクリーニングには、悪性度と関連する遺伝子を指標とする。遺伝子の発現レベルは、ノーザンブロット法やRT-PCR法などの公知の方法に基づいて検出し、あるいは定量することができる。

スクリーニングに用いる被検試料としては、例えば、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などが挙げられるが、これらに制限されない。また、本発明のタンパク質との結合活性を指標とした上記のスクリーニングにより単離された化合物を被検試料として用いることも可能である。

このスクリーニングにより単離される化合物は、本発明の遺伝子の発現阻害剤の候補となる。これら化合物は、本発明の遺伝子が関連する胃癌やその転移の予防薬や治療薬への応用が考えられる。

本発明のスクリーニング方法により単離された化合物を医薬品として用いる場合には、単離された化合物自体を直接患者に投与する以外に、公知の製剤学的方法により製剤化して投与を行うことも可能である。例えば、薬理学上許容される担体もしくは媒体、具体的には、滅菌水や生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤などと適宜組み合わせて製剤化して投与することが考えられる。患者への投与は、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射など当業者に公知の方法により行いうる。投与量は、患者の体重や年齢、投与方法などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。また、該化合物がDNAによりコードされうるものであれば、該DNAを遺伝子治療用ベクターに組込み、遺伝子治療を行うことも考えられる。投与量、投与方法は、患者の体重や年齢、症状などにより変動するが、当業者であれば適宜選択することが可能である。

次に、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

発明を実施するための最良の形態

実施例 1. ディファレンシャル解析による発現レベルの比較

以下の細胞について発現レベルを解析し、正常部と癌部、癌部と転移病変の間で相互に比較して、発現レベルが5倍（または3倍）以上変化している遺伝子とハイブリダイズするプローブを選択した。括弧内の数字は試料番号を示す。

胃癌

胃癌組織：2例（#13および#18）

胃癌組織#13と同じ患者に由来するリンパ節転移組織：1例（#14）

胃癌組織#13と同じ患者に由来する正常胃粘膜：1例（#12）

胃癌細胞株OCUM-2M : 1 例

腹膜播種能の高い胃癌細胞株OCUM-2MD3 : 1 例

ヌードマウス移植胃癌 : 2 例 (#5および#6)

正常胃粘膜の手術サンプル : 1 例 (#3)

細胞株としては、大阪市立大学第1外科学教室において樹立された胃癌細胞株OCUM-2Mと高頻度に腹膜播種を引き起こす亜株であるOCUM-2MD3 (Br. J Cancer 72:1200-1210, 1995)を用いた。以下のRNAの抽出と標識、そしてアレイとのハイブリダイズは、原則としてAffymetrix社の指示書に従って行った。

臨床検体、または10%牛胎児血清を含むD-MEM培地で培養した細胞株から、オリゴ(dT)セルローススピンカラム法(QuickPrep mRNA Purification kit, Pharmacia)によりPoly(A)⁺RNAを調製した。Poly(A)⁺RNA 1 μ gを用いてT7付加オリゴ(dT)24をプライマーとして逆転写酵素(Superscript RT II, BRL)により1本鎖cDNAを合成し、さらにE. coli DNAリガーゼとE. coli DNAポリメラーゼを用いて2本鎖cDNAを合成した。合成したcDNAを定法に従いフェノール・クロロホルム抽出した。この2本鎖cDNAを鋳型としてT7 RNAポリメラーゼによってcRNAを合成した。合成には、MEGAscript T7 kit (Ambion製)を用いた。このとき、標識ヌクレオチドとしてBiotin-11-CTPおよびBiotin-16-UTPを加え、cRNAを標識した。合成したcRNAをRNeasy Mini Kit (QUIAGEN製)によって回収し、SPIN-100 Columns (CLONETECH製)で精製した。精製cRNAは、加熱によって断片化後、cDNAオリゴヌクレオチドアレイ(Affymetrix社)とのハイブリダイゼーションに用いた。cRNAの断片化は、cRNA 20 μ gを含むRNaseフリーの精製水32 μ Lに対して、以下の断片化緩衝液を8 μ L加え(cRNA最終濃度0.5 μ g/ μ L)、94℃で35分間処理することによって行った。この加熱処理により、cRNAはおよそ35-200bpの大きさに断片化される。

5×断片化緩衝液

4.0 mL 1M トリス-酢酸緩衝液(pH 8.1)

0. 6 4 g 酢酸マグネシウム

0. 9 8 g 酢酸カルシウム

DEPC処理したH₂Oで20 mLにする。

断片化したcRNAサンプルは、以下の組成からなるハイブリダイゼーションカクテルとし、一端99℃で5分間処理し、次いで45℃のヒートブロック上に5分間置いた。その200 μLをアレイに加えて45℃で16時間ハイブリダイズさせた。ハイブリダイズに用いた5枚のアレイ、すなわちHuGeneFL（旧称Hu6800）には約6500種類の、そしてHu35K A、B、C、およびD上には、合わせておよそ35000種類の遺伝子あるいはESTに由来する塩基配列を持ったオリゴヌクレオチドが合成されている。なおハイブリダイゼーション以降の洗浄から蛍光染色にいたる工程には、GeneChip Fluidics Station 400（Affymetrix社製）を用いた。

ハイブリダイゼーションカクテル：

断片化cRNA 15 μg

コントロールオリゴヌクレオチドB2(5nM) 3 μL

100×コントロールcRNAカクテル 各3 μL

サケ精子DNA(10mg/mL) 3 μL

アセチル化BSA(50mg/mL) 3 μL

2×MESハイブリダイゼーション緩衝液 150 μL

total 300 μLに調整

ハイブリダイゼーション終了後、アレイからハイブリダイゼーションカクテルを除いて、250 μLの洗浄液を加えた。非特異的なシグナルを洗浄除去した後、フィコエリスリニン-ストレプトアビジン(streptavidin phycoerythrin; SAPE)を結合させた。さらにアビジンに対する抗体、そして再びフィコエリスリニン-ストレプトアビジンを用いて蛍光を増強した。洗浄液と蛍光染色に用いた反応液の組成は次のとおりである。

洗浄液：

8 3. 3 mL 1 2×MESストック緩衝液

5. 2 mL 5 M NaCl

1. 0 mL 1 0% Tween20

9 1 0. 5 mL H₂O

蛍光染色用反応液：

3 0 0 μL 2×染色緩衝液

2 7 0 μL H₂O

2 4 μL 5 0 mg/mLアセチル化BSA

6 μL 1 mg/mL フィコエリスリンストレプトアビジン

蛍光増強用抗ストレプトアビジン抗体（6 0 0 μL中）：

3 0 0 μL 2×染色緩衝液

2 4 μL 5 0 mg/mLアセチル化BSA

6. 0 μL 1 0 mg/mL正常ヤギIgG

3. 6 μL 0. 5 mg/mLビオチン化抗体

2 6 6. 4 μL H₂O

蛍光増強用フィコエリスリンストレプトアビジン（1 2 0 0 μL中）：

6 0 0 μL 2×染色緩衝液

4 8 μL 5 0 mg/mLアセチル化BSA

1 2 μL 1 mg/mL フィコエリスリンストレプトアビジン

5 4 0 μL H₂O

蛍光染色した各アレイの蛍光強度を、共焦点レーザー装置（HP Genearrayスキヤナー）により測定した。5つのアレイ上の遺伝子あるいはESTについて、2つの細胞由来のRNAの間で蛍光強度（average difference）すなわち遺伝子発現強度を比較し、その比（fold change）を算出した。そして、少なくとも1つの対照試料に比べ5倍、または2つの対照試料双方に対して3倍以上の増加あるいは減少が確認されたものを選択した（表2）。

表 2. 選択された遺伝子の発現プロフィール

[illegible]

| | | | | | | |
|---|------|-------|----------|-------|-----|--|
| AA147884 | -6 | ~5.9 | (13)145 | ~11.2 | 11 | zl50b04.s1 Soares pregnant uterus NbHPU Homo sapiens cDNA clone 505327 3. |
| AA147884 | -6 | ~5.0 | (18)116 | ~7.0 | 11 | zl50b04.s1 Soares pregnant uterus NbHPU Homo sapiens cDNA clone 505327 3. |
| AA235118 5b 5a 5c AA235118 | 459 | 7.9 | (5)2545 | 6 | 323 | C-MAMMA1002461 zs36f07.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 687301 3 similar to contains element MSR1 repetitive element . |
| AA242823 13b 13a 13c | -313 | ~14.1 | (13)7 | ~8.8 | -34 | C-NT2RP2002193 zr65e10.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 668298 3. |
| AA255525 13b 13c AA255525 | 66 | 3.9 | (13)214 | ~7.9 | -87 | C-THYRO1000401 zr85a12.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 682462 3. |
| AA258267 5c AA258267 | 10 | ~3.0 | (5)66 | ~3.5 | 1 | C-NT2RP3004041 zr60h08.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 667839 3. |
| AA281528 13b 13a 13c | -91 | ~12.5 | (13)225 | ~9.5 | -18 | C-OVARC1000781 zt08g09.s1 NCI_CGAP_GCB1 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:712576 3. |
| AA292158 13a 18a 13c | 2 | ~10.0 | (13)319 | 3.3 | 97 | C-PLACE4000052 zt46c03.r1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 725380 5. |
| AA292158 | 2 | ~7.8 | (18)112 | | | zt46c03.r1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 725380 5'. |
| AA323430 18b AA323430 | | | (18)114 | ~6.2 | -6 | C-NT2RP3002948 EST26202 Cerebellum II Homo sapiens cDNA 5' end similar to similar to ring canal protein. |
| AA378597 13a AA378597 | -246 | ~27.4 | (13)559 | | | C-PLACE1001845, EST91316 Synovial sarcoma Homo sapiens cDNA 5' end. |
| AA379742 5a AA379742 | -53 | ~8.0 | (5)147 | | | C-NT2RM2001637 EST92623 Skin tumor I Homo sapiens cDNA 5 end. |
| AA398596 13b 5b 1 3a 5a 13c 5c 5 | 48 | ~13.3 | (5)380 | 5.1 | 75 | C-PLACE1006469 zt70a05.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 727664 3. |
| AA398596 | 48 | ~7.9 | (13)153 | ~10.0 | 75 | zt70a05.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 727664 3. |
| AA399226 5b AA399226 | | | (5)170 | ~7.4 | -1 | C-HEMBA1002417 zt50c01.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 725760 3. |
| AA402715 14 18a AA402715 | 539 | 7.3 | (18)3949 | | | C-PLACE1000786 zu47c06.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo |

| | | | | | | | |
|----------|-----------------------------------|-------|---------|----------|------|-----|---|
| AA402823 | [13b]18b | | | | | | sapiens cDNA clone 741130 3'. |
| AA402823 | | | (13)146 | ~7.2 | -125 | | C-MAMMA1000416 zu55g07.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 741948 3'. |
| AA402823 | | | (18)287 | ~8.7 | -125 | | zu55g07.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 741948 3'. |
| AA410311 | [18a] | -138 | ~25.7 | (18)615 | | | C-PLACE1005409 zv23c07.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 754476 3'. |
| AA410343 | [5a] | -1797 | ~29.7 | (5)63 | | | C-HEMBB1002600 zv16e11.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 753836 3'. |
| AA422049 | [18a] | 25 | 7.3 | (18)200 | | | C-NT2RP3000605 zv28g05.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 755000 3' similar to gb:J02621 NONHISTONE CHROMOSOMAL PROTEIN HMG-14 (HUMAN);. |
| AA426218 | [13b]5b | | (5)257 | ~8.5 | 12 | | C-NT2RM4002390 zw17c11.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 769556 3'. |
| AA426218 | | | (13)157 | ~5.4 | 12 | | zw17c11.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 769556 3'. |
| AA427861 | [13b]18b] [13a]18a]1 3c]18c | | | | | | C-HEMBA1004055 |
| AA427861 | | 68 | 10 | (13)253 | 6.5 | 44 | zw50b01.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 773449 3'. |
| AA427861 | | 68 | 5.2 | (18)295 | 6.6 | 44 | zw50b01.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 773449 3'. |
| AA429917 | [13b] | | (13)444 | ~21.5 | -25 | | C-PLACE1005603 zw66f03.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 781181 3'. |
| AA430355 | [18a]18c | 151 | 7.6 | (18)1227 | 3.4 | 366 | C-HEMBA1002150 zw20e04.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 769854 3'. |
| AA430674 | [13a]5a | -45 | ~19.5 | (5)518 | | | C-Y79AA1000258 zw26d12.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 770423 3'. |
| AA430674 | | -45 | ~12.2 | (13)297 | | | zw26d12.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 770423 3'. |
| AA433899 | [13b] | | (13)141 | ~12.9 | -47 | | C-NT2RM1001105 zw52b06.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 773651 3'. |
| AA445994 | [5a] | 4 | ~6.5 | (5)153 | | | C-NT2RM4000027 zw64e04.s1 Soares testis |

| | | | | | | | |
|--------|----------|------|-------|---------|-------|------|--|
| C02472 | 5a | | | | | | NHT Homo sapiens cDNA clone 1030723 3 . |
| C02472 | | 35 | 11 | (5)454 | | | C-Y79AA1000784 C-NT2RM4001382 HUMGS0012359, Human Gene Signature, 3 - directed cDNA sequence. |
| H49440 | 13a | 56 | ~11.3 | (13)195 | | | C-NT2RP3003290 yo23d12.r1 Homo sapiens cDNA clone 178775 5 similar to contains Alu repetitive element; contains PTR7 repetitive element . |
| H61476 | 5b 5c | 62 | ~4.5 | (5)439 | ~11.1 | 55 | C-HEMBA1004889 yr17e08.s1 Homo sapiens cDNA clone 205574 3 . |
| N22273 | 13a 5a | | | | | | C-HEMBA1006676 (HELIX) 2869 bp C-NT2RM2001696 (HELIX) 2661 bp |
| N22273 | | 0 | ~5.5 | (5)238 | | | |
| N22273 | | 0 | ~5.7 | (13)184 | | | |
| N30796 | 5c | 66 | ~4.6 | (5)573 | 3.3 | 142 | C-NT2RM4002593 yw65d03.s1 Homo sapiens cDNA clone 257093 3 . |
| N31610 | 5c | -211 | ~3.5 | (5)73 | ~3.4 | -10 | C-Y79AA1001781 yy20g10.s1 Homo sapiens cDNA clone 271842 3 . |
| N39361 | 5b 5c | 156 | 3.1 | (5)109 | ~5.9 | -72 | C-HEMBA1003805 yx80d09.r1 Homo sapiens cDNA clone 268049 5 . |
| N40170 | 5b | | | | | | C-NT2RP2002606 C-NT2RP3003876 yy44b06.s1 Homo sapiens cDNA clone 276371 3 . |
| N40170 | | | | (5)130 | ~5.2 | -5 | |
| N73762 | 13b | | | (13)842 | 6 | 150 | C-HEMBA1007085 za61f08.s1 Homo sapiens cDNA clone 297063 3 . |
| N78718 | 13a | 51 | 5.2 | (13)280 | | | C-NT2RP3000109 zb02f10.s1 Homo sapiens cDNA clone 300907 3 . |
| R05274 | 18b | | | (18)734 | 5.7 | 118 | C-PLACE1004506 ye91b06.s1 Homo sapiens cDNA clone 125075 3'. |
| R06271 | 18a 18c | 79 | 7.9 | (18)881 | 4.1 | 180 | C-PLACE1005409 yf08e02.s1 Homo sapiens cDNA clone 126266 3 . |
| R31785 | 5b 5a 5c | -913 | ~15.1 | (5)911 | ~33.3 | -555 | C-OVARC1001726 yh68g11.s1 Homo sapiens cDNA clone 134948 3 . |
| R44761 | 13a | 19 | ~6.3 | (13)471 | | | C-NT2RP2003272 yg30h03.s1 Homo sapiens cDNA clone 34148 3 similar to contains MER28 repetitive element . |
| R54743 | 13b 5b | | | (5)492 | 13.5 | 36 | C-HEMBA1005621 yj75a07.r1 Homo sapiens cDNA clone 154548 5 . |
| R54743 | | | | (13)209 | 5.8 | 36 | yj75a07.r1 Homo sapiens cDNA clone 154548 5 . |
| R56678 | 13b | | | (13)85 | ~5.5 | 15 | C-NT2RP3002399 yi04d08.r1 Homo sapiens cDNA clone 138255 5 similar to contains Alu repetitive element. |
| T10166 | 13c | 61 | 4.1 | (13)249 | 4.2 | 94 | C-NT2RM2000101 C-NT2RP2002208 seq879 Homo sapiens cDNA clone b4HB3MA-COT8-HAP-Ft166 3 . |
| T33018 | 18a 5a | -263 | ~10.6 | (5)407 | | | C-NT2RM4000514 EST56331 Homo sapiens |

| | | | | | | | | |
|--------|------------|------|-------|---------|-------|------|-------------|---|
| T33018 | | -263 | ~6.1 | (18)221 | | | | cDNA 3' end similar to None. EST56331 Homo sapiens cDNA 3' end similar to None. |
| T47788 | 5a | -192 | ~6.6 | (5)260 | | | | C-NT2RM1000039 yb17a11.s1 Homo sapiens cDNA clone 71420 3'. |
| T64575 | 5a | 254 | 6.3 | (5)1387 | | | | C-MAMMA1001388 yc25a03.s1 Homo sapiens cDNA clone 81676 3'. |
| T71373 | 5b 5a 5c | -545 | ~20.3 | (5)251 | ~43.6 | -775 | | C-MAMMA1001388 yc61h07.s1 Homo sapiens cDNA clone 85213 3'. |
| T90699 | 18b 18c | -93 | ~3.7 | (18)234 | ~6.1 | 24 | | C-NT2RP3002273 C-MAMMA1000284 ye16d10.s1 Homo sapiens cDNA clone 117907 3' similar to contains PTR5 repetitive element ;. |
| T95057 | 13b 5b | | | (5)408 | ~5.4 | 25 | | C-HEMBA1007085 ye39d04.s1 Homo sapiens cDNA clone 120103 3'. |
| T95057 | | | | (13)847 | 16.8 | 25 | | ye39d04.s1 Homo sapiens cDNA clone 120103 3'. |
| T97111 | 5b | | | (5)229 | 8.2 | -38 | | C-NT2RM2001345 ye41d04.r1 Homo sapiens cDNA clone 120295 5'. |
| T99474 | 5c | -9 | ~3.0 | (5)223 | 3.2 | 70 | | C-NT2RP2000289 ye64d12.s1 Homo sapiens cDNA clone 122519 3'. |
| W27237 | 14 | | | | | | 31 12.1 444 | C-MAMMA1002143 24c11 Human retina cDNA randomly primed sublibrary Homo sapiens cDNA. |
| W68734 | 5b 5a 5c | -234 | ~6.6 | (5)319 | ~11.3 | -7 | | C-NT2RM4001155 zd37f08.s1 Soares fetal heart NbHH19W Homo sapiens cDNA clone 342855 3'. |
| W72547 | 13a | 36 | 6.2 | (13)220 | | | | C-HEMBA1004669 zd64g12.s1 Soares fetal heart NbHH19W Homo sapiens cDNA clone 345478 3'. |
| W86853 | 5b 5c | 20 | ~3.8 | (5)98 | ~5.6 | -34 | | C-NT2RP3002818 zh59d05.s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS S1 Homo sapiens cDNA clone 416361 3'. |
| Z38501 | 13b 18b | | | (13)144 | ~5.8 | 29 | | C-NT2RP3001730 H. sapiens partial cDNA sequence; clone c-0de11. |
| Z38501 | | | | (18)141 | ~5.7 | 29 | | H. sapiens partial cDNA sequence; clone c-0de11. |

表中、選出法に「5」と記されているものはSCIDマウスに移植した胃癌組織(#5)を用いた発現解析で同定された遺伝子を示しており、「13」および「18」と記されているものは胃癌臨床検体(#13 および #18)を用いた発現解析で同定された遺伝子を示している。これら3つの癌部に対し、正常部臨床検体 #3 および #12 (#12は#13と同一標本)の2つから発現の上昇を示した。「a」は正常部臨床検体

#3 に対して発現の上昇 (fold change) が5倍以上であることを示し、「b」は正常部臨床検体 #12 に対して発現の上昇 (fold change) が5倍以上であることを示す。「c」は、正常部臨床検体 #3 に対して発現の上昇 (fold change) が3倍以上、かつ正常部臨床検体 #12 に対しても発現の上昇が3倍以上であることを示す。

「14」は、胃癌臨床検体#13のリンパ節転移を用いた発現解析で同定された遺伝子を示しており、#13に対して「fold change」が5倍以上上昇する遺伝子を表す。各試料における発現量 (average difference) (表中の「5or13or18」の欄では、括弧内に検体番号を示す) および fold change (表中、比較した2つの検体を「fold →」または「←fold」で示す) も、表中に示した。

この実験とは別に、肝癌においても同様の実験を試みた。すなわち、B型肝炎ウイルス感染患者 (検体番号#5) 由来の肝癌組織と、同じ患者に由来する非癌 (肝硬変) 組織を用いて、上記と同様のディファレンシャル解析による発現レベルの比較を行ったところ、上記 MAMMA1000416 の発現 (average difference) は、非癌 (肝硬変) 組織においては「55」、肝癌組織においては「569」であった。すなわち、非癌 (肝硬変) 組織との比 (fold change) は ~4.8 となり、MAMMA1000416 の発現は肝癌においても上昇することが判明した。

2. 全長cDNAデータベース

ヒト胎児精巣由来のテラトカルシノーマ細胞でレチノイン酸処理により神経細胞に分化可能なNT-2神経前駆細胞 (Stratagene社より購入) を、添付のマニュアルにしたがって次のように処理したものをを用いた。

- (1) NT-2細胞をレチノイン酸で誘導しないで培養 (NT2RM1, NT2RM2, NT2RM4)、
- (2) NT-2細胞を培養後、レチノイン酸を添加して誘導後、2週間培養 (NT2RP2, NT2RP3, NT2RP4)。

また、ヒトretinoblastoma培養細胞Y79 (ATCC HTB-18) (Y79AA1) をATCCカタログ (<http://www.atcc.org/>) 記載の培養条件で培養した。培養細胞を集めて、文

献(J. Sambrook, E. F. Fritsch & T. Maniatis, Molecular Cloning Second edition, Cold Spring harbor Laboratory Press 1989) 記載の方法によりmRNAを抽出した。さらに、オリゴdTセルロースでpoly(A)⁺ RNAを精製した。

同様に、ヒト胎盤組織 (PLACE1, PLACE3, PLACE4)、ヒト卵巣癌組織 (OVARC1)、ヒト10週令胎児より頭部を多く含む組織 (HEMBA1)、ヒト10週令胎児より胴体部分を多く含む組織 (HEMBB1)、ヒト乳腺組織 (MAMMA1)、ヒト甲状腺組織 (THYR01) より、文献 (J. Sambrook, E. F. Fritsch & T. Maniatis, Molecular Cloning Second edition, Cold Spring harbor Laboratory Press, 1989) 記載の方法によりmRNAを抽出した。さらに、オリゴdTセルロースでpoly(A)⁺ RNAを精製した。

それぞれのpoly(A)⁺RNAよりオリゴキャプ法 [M. Maruyama and S. Sugano, Gene, 138: 171-174 (1994)]によりcDNAライブラリーを作成した。Oligo-cap linker (agcaucgagu cgccuuguu ggccuacugg/配列番号: 1 5 0) およびOligo dT primer (gcggctgaag acggcctatg tggccttttt tttttttttt tt/配列番号: 1 5 1) を用いて文献 [鈴木・菅野, 蛋白質 核酸 酵素, 41: 197-201 (1996)、Y. Suzuki et al., Gene, 200: 149-156 (1997)]に書いてあるようにBAP (Bacterial Alkaline Phosphatase) 処理、TAP (Tobacco Acid Phosphatase) 処理、RNAライゲーション、第一鎖cDNAの合成とRNAの除去を行った。次いで、5' (agcatcgagt cggccttggt g/配列番号: 1 5 2) と3' (gcggctgaag acggcctatg t/配列番号: 1 5 3) のPCRプライマーを用いPCR (polymerase chain reaction)により2本鎖cDNAに変換し、SfiI切断した。次いで、DraIIIで切断したベクターpUC19FL3 (NT2RM1) またはpME18SFL3 (GenBank AB009864, Expression vector) (NT2RM2, NT2RM4, NT2RP2, NT2RP3, NT2RP4, Y79AA1, PLACE1, PLACE3, PLACE4, OVARC1, HEMBA1, HEMBB1, MAMMA1, THYR01) にcDNAの方向性を決めてクローニングし、cDNAライブラリーを作成した。これらより得たクローンのプラスミドDNAについて、cDNAの5' 端または3' 端の塩基配列をDNAシーケンシング試薬 (Dye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit, dRhodamine Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction

KitまたはBigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit, PE Biosystems社製)を用い、マニュアルに従ってシーケンシング反応後、DNAシーケンサー (ABI PRISM 377, PE Biosystems社製) でDNA塩基配列を解析した。得られたデータをデータベース化した。

NT2RM1以外のオリゴキャップ高全長率cDNAライブラリーは、真核細胞での発現が可能な発現ベクターpME18SFL3を用いて作製した。pME18SFL3にはクローニング部位の上流にSR α プロモーターとSV40 small tイントロンが組み込まれており、またその下流にはSV40ポリA付加シグナル配列が挿入されている。pME18SFL3のクローン化部位は非対称性のDraIIIサイトとなっており、cDNA断片の末端にはこれと相補的なSfiI部位を付加しているため、クローン化したcDNA断片はSR α プロモーターの下流に一方方向性に挿入される。したがって、全長cDNAを含むクローンは、得られたプラスミドをそのままCOS細胞に導入することにより、一過的に遺伝子を発現させることが可能である。すなわち、非常に容易に、遺伝子産物である蛋白質として、あるいはそれらの生物学的活性として実験的に解析することが可能となっている。

決定された5'側の塩基配列に基づいて、各クローンの全長性を評価した。全長性は、ATGprやESTiMateFLによる解析結果等を利用して評価した。ATGprは、ATGコドンの周辺の配列の特徴から翻訳開始コドンであるかどうかを予測するためにヘリックス研究所のA. A. Salamov, T. Nishikawa, M. B. Swindellsにより開発されたプログラムである。またESTiMateFLは、公共データベース中のESTの5'-末端配列や3'-末端配列との比較による全長cDNAの可能性の高いクローンを選択するヘリックス研究所の西川・太田らにより開発された方法である。

全長性の評価によって全長である可能性が高いクローンを選択した。更にその中から、5'側と3'側の塩基配列について公共データベースを検索し、新規であると判断されるクローンを選抜した。

選抜したクローンについて各々全長cDNAの塩基配列を決定した。塩基配列は主

に、カスタム合成DNAプライマーを用いたダイデオキシターミネーター法によるプライマーウォーキング（カスタム合成DNAプライマーを用い、PE Biosystem社製のDNAシーケンシング試薬でマニュアルに従ってシーケンシング反応後、同社製のシーケンサーでDNA塩基配列を解析）によって決定した。一部のクローンについては同様の方法でLicor 社製DNAシーケンサーを用いて塩基配列を決定した。全長塩基配列は上記方法により決定された部分塩基配列を完全にオーバーラップさせ最終的に確定した。次に、決定された全長塩基配列から、推定アミノ酸配列を求めた。こうして明らかにされた全長塩基配列と推定アミノ酸配列をデータベース化し、全長cDNAデータベースとした。

3. DD法で選択した塩基配列との照合

2の全長cDNAデータベースに対して、1で選択した76クロンの配列は、公知の塩基配列に同一のものがなく（すなわち新規）、しかも全長cDNAクローンと判定されたcDNAクローンと同一の塩基配列からなっていることが判明した。塩基配列が一致した全長cDNAクロンの塩基配列と対応するアミノ酸配列の配列番号を表1に示した。

最終的に、正常胃粘膜（#3または#12）に比べ、胃癌組織（#13または#18）において5倍以上発現が増加、あるいは、正常胃粘膜#3および#12双方に対して3倍以上増加する遺伝子として、表2の選出法に「13a」（#13で#3の5倍以上）、「13b」（#13で#12の5倍以上）、「13c」（#13で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）、「18a」（#18で#3の5倍以上）、「18b」（#18で#12の5倍以上）、または「18c」（#18で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）と記載された配列で示される遺伝子が選択された。これらの遺伝子は、以下のものが含まれる：HEMBB1001294、NT2RP2001327、NT2RP2000459、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1002716、NT2RP2002193、THYRO1000401、OVARC1000781、PLACE4000052、NT2RP3002948、PLACE1001845、PLACE1006469、PLACE1000786、MAMMA1000416、PLACE1005409、NT2RP3000605、

NT2RM4002390、HEMBA1004055、PLACE1005603、HEMBA1002150、Y79AA1000258、NT2RM1001105、PLACE1006037、OVARC1001270、HEMBB1001482、MAMMA1000416、PLACE1000133、NT2RP2004013、PLACE3000242、NT2RP3003290、HEMBA1006676、NT2RM2001696、HEMBA1007085、NT2RP3000109、PLACE1004506、PLACE1005409、NT2RP2003272、HEMBA1005621、NT2RP3002399、NT2RM2000101、NT2RP2002208、NT2RM4000514、NT2RP3002273、MAMMA1000284、HEMBA1007085、HEMBA1004669、および NT2RP3001730。

また、胃癌組織#13に比べ、リンパ節転移巣の癌組織#14において5倍以上発現が増加する遺伝子として、表2の選出法に「14」と記載された配列で示される遺伝子が選択された。これらの遺伝子は以下のものが含まれる：NT2RP2001420、PLACE1000786、および MAMMA1002143。

あるいは、胃癌細胞株OCUM-2Mに比べ、腹膜播種能の高い胃癌細胞株OCUM-2MD3で5倍以上発現が上昇する遺伝子として以下のものが選択された：

MAMMA1001388

更に、正常切除胃粘膜細胞（#3または#12）に比べ、ヌード（SCID）マウス移植胃癌#5で5倍以上発現が上昇、あるいは、正常胃粘膜#3および#12双方に対して3倍以上上昇する遺伝子として、表2の選出法に「5a」（#5で#3の5倍以上）、「5b」（#5で#12の5倍以上）、または「5c」（#5で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）と記載された配列で示される遺伝子が選択された。これらの遺伝子は以下のものが含まれる：MAMMA1002351、NT2RP2001327、NT2RM1000355、Y79AA1000784、NT2RM4001382、NT2RM1000055、PLACE1008947、MAMMA1002461、NT2RP3004041、NT2RM2001637、PLACE1006469、HEMBA1002417、HEMBB1002600、NT2RM4002390、Y79AA1000258、NT2RM4000027、MAMMA1002143、NT2RP4000973、NT2RP2005360、HEMBA1003615、NT2RM2000522、HEMBA1002475、NT2RP2004242、NT2RM2001637、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1004889、HEMBA1006676、NT2RM2001696、NT2RM4002593、Y79AA1001781、HEMBA1003805、NT2RP2002606、NT2RP3003876、OVARC1001726、

HEMBA1005621、NT2RM4000514、NT2RM1000039、MAMMA1001388、MAMMA1001388、
HEMBA1007085、NT2RM2001345、NT2RP2000289、NT2RM4001155、および NT2RP3002818。

4. 選択されたクローンの特性

これらのクローンについてATGprによる全長性の評価結果を以下に示す。ATGprは、ATGコドンの周辺の配列の特徴から翻訳開始コドンであるかどうかを予測するためにヘリックス研究所のA. A. Salamov, T. Nishikawa, M. B. Swindellsにより開発されたプログラムである [A. A. Salamov, T. Nishikawa, M. B. Swindells, Bioinformatics, 14: 384-390 (1998); <http://www.hri.co.jp/atgpr/>]。結果は、そのATGが真の開始コドンである期待値（以下ATGpr1と記載することもある）で表した。

| | |
|--------------|------|
| HEMBA1002150 | 0.31 |
| HEMBA1002417 | 0.83 |
| HEMBA1002475 | 0.88 |
| HEMBA1002716 | 0.14 |
| HEMBA1003615 | 0.94 |
| HEMBA1003805 | 0.94 |
| HEMBA1004055 | 0.74 |
| HEMBA1004669 | 0.94 |
| HEMBA1004889 | 0.94 |
| HEMBA1005621 | 0.94 |
| HEMBA1006676 | 0.17 |
| HEMBA1007085 | 0.73 |
| HEMBB1001294 | 0.86 |
| HEMBB1001482 | 0.44 |
| HEMBB1002600 | 0.91 |

| | |
|--------------|------------------------|
| MAMMA1000284 | 0.35 |
| MAMMA1000416 | 0.89 |
| MAMMA1001388 | 0.94 |
| MAMMA1002143 | 0.91 |
| MAMMA1002351 | 0.89 |
| MAMMA1002461 | 0.49 |
| NT2RM1000039 | 0.77 |
| NT2RM1000055 | 0.89 |
| NT2RM1000355 | 0.94 |
| NT2RM1001105 | 0.94 |
| NT2RM2000101 | 0.77 |
| NT2RM2000522 | 0.91 |
| NT2RM2001345 | 0.94 |
| NT2RM2001637 | 0.71 |
| NT2RM2001696 | 0.94 |
| NT2RM4000027 | 0.40 |
| NT2RM4000514 | 0.72 |
| NT2RM4001155 | 0.94 |
| NT2RM4001382 | 0.93 |
| NT2RM4002390 | 0.18 (最大ATGpr2値は 0.24) |
| NT2RM4002593 | 0.91 |
| NT2RP2000289 | 0.06 (最大ATGpr2値は 0.35) |
| NT2RP2000459 | 0.12 |
| NT2RP2001327 | 0.86 |
| NT2RP2001420 | 0.88 |
| NT2RP2002193 | 0.48 |

| | |
|--------------|------|
| NT2RP2002208 | 0.49 |
| NT2RP2002606 | 0.11 |
| NT2RP2003272 | 0.94 |
| NT2RP2004013 | 0.48 |
| NT2RP2004242 | 0.94 |
| NT2RP2005360 | 0.12 |
| NT2RP3000109 | 0.18 |
| NT2RP3000605 | 0.92 |
| NT2RP3001730 | 0.77 |
| NT2RP3002273 | 0.90 |
| NT2RP3002399 | 0.91 |
| NT2RP3002818 | 0.91 |
| NT2RP3002948 | 0.60 |
| NT2RP3003290 | 0.62 |
| NT2RP3003876 | 0.42 |
| NT2RP3004041 | 0.52 |
| NT2RP4000973 | 0.36 |
| OVARC1000781 | 0.80 |
| OVARC1001270 | 0.48 |
| OVARC1001726 | 0.18 |
| PLACE1000133 | 0.53 |
| PLACE1000786 | 0.88 |
| PLACE1001845 | 0.08 |
| PLACE1004506 | |
| PLACE1005409 | 0.09 |
| PLACE1005603 | 0.92 |

| | |
|--------------|------|
| PLACE1006037 | 0.65 |
| PLACE1006469 | 0.85 |
| PLACE1008947 | 0.05 |
| PLACE3000242 | 0.94 |
| PLACE4000052 | 0.80 |
| THYR01000401 | 0.73 |
| Y79AA1000258 | 0.36 |
| Y79AA1000784 | 0.93 |
| Y79AA1001781 | 0.74 |

次にこれらのクローンの全長塩基配列から推定されたアミノ酸配列に対して、アミノ末端のシグナル配列の有無と膜貫通領域の有無を予測、さらに蛋白質の機能ドメイン(モチーフ)検索を行った。アミノ末端のシグナル配列についてはPSORT [K. Nakai & M. Kanehisa, Genomics, 14: 897-911 (1992)]を、膜貫通領域についてはSOSUI [T. Hirokawa et.al. Bioinformatics, 14: 378-379 (1998)] (三井情報開発株式会社販売)を用いて解析を行った。機能ドメインの検索についてはPfam (<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml>)を用いた。PSORTやSOSUIにより、アミノ末端のシグナル配列や膜貫通領域が予測されたアミノ酸配列は分泌、膜蛋白質であると予測された。また、Pfamによる機能ドメイン検索において、ある機能ドメインにヒットしたアミノ酸配列はヒットデータをもとに、例えばPROSITE (<http://www.expasy.ch/cgi-bin/prosite-list.pl>)にある機能カテゴリー分類を参照にしてその蛋白質の機能予測することができる。また、PROSITEでの機能ドメインの検索も可能である。

その結果、Y79AA1000258は、PSORTにより推定アミノ酸配列にシグナル配列を検出された。また、HEMBA1002150、HEMBA1004889、HEMBA1002600、MAMMA1000416、MAMMA1001388、MAMMA1002461、NT2RM1000355、NT2RP2000289、NT2RP2000459、

NT2RP4000973、PLACE4000052、HEMBA1004055、およびY79AA1000258 は、SOSUIにより推定アミノ酸配列に膜貫通領域が検出された。

各クローンの全長塩基配列および推定アミノ酸配列に基づく公知の遺伝子データベースに対する相同性検索結果を以下に示す。各データは、配列名、最も類似性が高かったヒットデータのDefinition、P値、比較配列の長さ、相同性、ヒットデータのAccession No. の順に//で区切って記載した。ここでP値とは、配列間の類似性を統計的に起こりうる確率を考慮してスコアで示したもので、一般に値が小さいと類似性が高い(Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. & States, D.J. (1993) "Identification of protein coding regions by database similarity search." Nature Genet. 3:266-272)。

HEMBA1002417//Homo sapiens chromosome 19, cosmid R28784, complete sequence."//1.4E-299//294bp//100%/AC005954

HEMBA1002417//TIGHT JUNCTION PROTEIN ZO-1 (TIGHT JUNCTION PROTEIN 1).//1.00E-121//489aa//52%/P39447

HEMBA1002475//SKIN SECRETORY PROTEIN XP2 PRECURSOR (APEG PROTEIN).//1.10E-12//285aa//31%/P17437

HEMBA1003615//Homo sapiens ART-4 mRNA, complete cds.//0//1713bp//99%/AB026125

HEMBA1003805//Mus musculus KH domain RNA binding protein QKI-5A mRNA, complete cds.//0//988bp//95%/AF090402

HEMBA1004669//SON PROTEIN (SON3).//7.30E-17//288aa//36%/P18583

HEMBA1004889//Human C3f mRNA, complete cds.//6.70E-24//341aabbp//26%/U72515

HEMBA1005621//Homo sapiens Mad2B protein (MAD2B) mRNA, complete

cds."//2.9E-224//1031bp//99%//AF139365
HEMBA1005621//Homo sapiens Mad2-like protein mRNA, complete cds.//8.00E-211//962bp//99%//AF072933
HEMBB1001294//GTP-BINDING PROTEIN TC10.//1.20E-79//196aa//80%//P17081
HEMBB1001482//ZINC FINGER PROTEIN 91 (ZINC FINGER PROTEIN HTF10) (HPF7).//2.10E-57//941aa//27%//Q05481
HEMBB1002600//Homo sapiens tetraspan NET-5 mRNA, complete cds.//0//1417bp//99%//AF089749
MAMMA1000284//P.walti mRNA for rnp associated protein 55.//2.20E-109//864bp//76%//X99836
MAMMA1000416//HYPOTHETICAL 32.0 KD PROTEIN C09F5.2 IN CHROMOSOME III.//2.00E-30//119aa//53%//Q09232
MAMMA1001388//LEUCINE-RICH ALPHA-2-GLYCOPROTEIN (LRG).//1.40E-165//312aa//99%//P02750
MAMMA1002143//Homo sapiens Cdc42 effector protein 4 mRNA, complete cds.//1.70E-252//1170bp//99%//AF099664
MAMMA1002351//FERRIPYOCHELIN BINDING PROTEIN.//0.000078//127aa//26%//P40882
MAMMA1002351//Mus musculus dynactin subunit p25 (p25) mRNA, complete cds.//4.30E-119//773bp//86%//AF190795
NT2RM1000039//HYPOTHETICAL 41.4 KD PROTEIN IN SRLQ-HYPF INTERGENIC REGION (EC 1.18.1.-) (ORF4) (ORF2).//2.90E-14//299aa//25%//P37596
NT2RM1000055//Homo sapiens mRNA for KIAA0829 protein, partial cds."//0//3111bp//99%//AB020636
NT2RM1000055//Rattus norvegicus mRNA for TIP120, complete cds.//0//3106bp//89%//D87671

NT2RM1000355//Homo sapiens transmembrane protein BRI (BRI) mRNA, complete cds.//0//1599bp//99%//AF152462

NT2RM2000522//SKIN SECRETORY PROTEIN XP2 PRECURSOR (APEG PROTEIN).//1.30E-12//282aa//32%//P17437

NT2RM2001345//VEGETATIBLE INCOMPATIBILITY PROTEIN HET-E-1.//2.90E-08//334aa//22%//Q00808

NT2RM4001155//ADRENAL MEDULLA 50 KD PROTEIN.//4.10E-197//445aa//78%//Q27969

NT2RM4001382//Homo sapiens RanBP7/importin 7 mRNA, complete cds.//2.20E-237//1079bp//99%//AF098799

NT2RP2001327//TUMOR NECROSIS FACTOR, ALPHA-INDUCED PROTEIN 1, ENDOTHELIAL (B12 PROTEIN).//5.50E-116//311aa//71%//Q13829

NT2RP2001420//Mus musculus nuclear protein NIP45 mRNA, complete cds.//9.00E-112//742bp//82%//U76759

NT2RP2002193//Homo sapiens PIAS3 mRNA for protein inhibitor of activated STAT3, complete cds.//0//2809bp//99%//AB021868

NT2RP2002606//Rattus norvegicus Rabin3 mRNA, complete cds.//9.20E-147//874bp//87%//U19181

NT2RP2003272//Homo sapiens ubiquilin mRNA, complete cds.//0//1789bp//99%//AF176069

NT2RP2004013//TRANSCRIPTION FACTOR BTF3 (RNA POLYMERASE B TRANSCRIPTION FACTOR 3).//2.30E-53//141aa//78%//P20290

NT2RP2004242//NEUROFILAMENT TRIPLET H PROTEIN (200 KD NEUROFILAMENT PROTEIN) (NF-H).//9.90E-12//427aa//26%//P19246

NT2RP2005360//Homo sapiens sentrin/SUMO-specific protease (SENPI) mRNA, complete cds.//1.30E-52//753bp//67%//AF149770

NT2RP3000109//P54 PROTEIN PRECURSOR.//0.0000065//358aa//22%/P13692

NT2RP3000605//Mus musculus mRNA for wizL, complete
cds.//0//2232bp//82%/AB012265

NT2RP3001730//SEPTIN 2 HOMOLOG (FRAGMENT).//7.10E-132//294aa//84%/Q14141

NT2RP3002273//SCD6 PROTEIN.//1.30E-09//295aa//28%/P45978

NT2RP3002399//DNA REPLICATION LICENSING FACTOR MCM4 (CDC21 HOMOLOG) (P1-
CDC21).//8.60E-79//416aa//34%/P33991

NT2RP3002818//INSERTION ELEMENT IS2A HYPOTHETICAL 48.2 KD
PROTEIN.//5.70E-226//303aa//97%/P51026

NT2RP3002948//RING CANAL PROTEIN (KELCH PROTEIN).//2.00E-
111//551aa//42%/Q04652

NT2RP3003290//Mus musculus mRNA for Ndr1 related protein Ndr3, complete
cds.//1.5e-310//1468bp//82%/AB033922

NT2RP3003876//Rattus norvegicus Rabin3 mRNA, complete cds.//4.50E-
147//874bp//87%/U19181

NT2RP4000973//PROBABLE PROTEIN DISULFIDE ISOMERASE P5 PRECURSOR (EC
5.3.4.1).//1.40E-26//90aa//42%/P38660

OVARC1001726//APICAL-LIKE PROTEIN (APXL PROTEIN).//4.30E-
16//116aa//43%/Q13796

PLACE1000133//TRANSCRIPTION FACTOR BTF3 (RNA POLYMERASE B TRANSCRIPTION
FACTOR 3).//1.80E-62//158aa//81%/P20290

PLACE1000786//PUTATIVE RHO/RAC GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR (RHO/RAC
GEF) (FACIOGENITAL DYSPLASIA PROTEIN HOMOLOG).//7.10E-
09//59aa//47%/P52734

PLACE1001845//Mus musculus cyclin ania-6a mRNA, complete cds.//3.30E-
31//925bp//62%/AF159159

PLACE1004506//Homo sapiens carboxyl terminal LIM domain protein (CLIM1) mRNA, complete cds.//2.10E-16//402bp//62%/U90878

PLACE1006469//ACETYL-COENZYME A SYNTHETASE (EC 6.2.1.1) (ACETATE--COA LIGASE) (ACYL- ACTIVATING ENZYME).//1.20E-83//313aa//49%/P27550

PLACE3000242//Homo sapiens mRNA for KIAA1114 protein, complete cds."//0//2786bp//96%/AB029037

PLACE3000242//Human trophinin mRNA, complete cds.//0//2290bp//99%/U04811

PLACE4000052//Homo sapiens ATP cassette binding transporter 1 (ABC1) mRNA, complete cds.//0//4661bp//99%/AF165281

THYR01000401//Human Tcd37 homolog (HTcd37) mRNA, partial cds.//1.10E-90//430bp//99%/U67085

Y79AA1000784//Homo sapiens RanBP7/importin 7 mRNA, complete cds."//1.10E-236//1076bp//99%/AF098799

5. 高密度DNAフィルターを用いた、ハイブリダイゼーションによる遺伝子発現解析

ナイロン膜スポット用のDNAは以下のように調製した。すなわち、プラスミドを保持した大腸菌を96穴プレートの各ウェルに培養し (LB培地で37度、16時間)、その培養液の一部を、96穴プレートの10 μ l ずつ分注した滅菌水中に懸濁し、100度で10分間処理した後、PCR反応のサンプルとして使用した。PCRはTaKaRa PCR Amplification Kit (宝社製) を用い、プロトコールに従って1反応20 μ l の反応溶液で行った。プラスミドのインサートcDNAを増幅するために、プライマーはシーケンシング用のプライマーME761FW (5' tacggaagtggttacttctgc3' / 配列番号: 1 5 4) とME1250RV (5' tgtgggaggttttttctcta3' / 配列番号: 1 5 5) のペア、またはM13M4 (5' gttttcccgatcacgac3' / 配列番号: 1 5 6) とM13RV (5' caggaaacagctatgac3' / 配列番号: 1 5 7) のペアを使用した。PCR反応は、

GeneAmp System9600 (PEバイオシステムズ社製) で、95度 5 分間処理後、95度10秒、68度1分間で10サイクルし、さらに98度20秒間、60度3分間で20サイクル行い、72度10分間で行った。PCR反応後、2 μ lの反応液を1%アガロースゲル電気泳動して、臭化エチジウムでDNAを染色し、増幅したcDNAを確認した。増幅できなかったものは、そのcDNAインサートをもつプラスミドを、アルカリ抽出法 (J Sambrook, EF Fritsh, T Maniatis, Molecular Cloning, A laboratory manual / 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) で調製した。

DNAアレイの作製は以下のように行った。384穴プレートの各ウェルにDNAを分注した。ナイロン膜 (ベーリンガー社製) へのDNAのスポッティングは、Biomek2000 ラボラトリーオートメーションシステム (ベックマンコールター社製) の384ピンツールを用いて行った。すなわち、DNAの入った384穴プレートをセットした。そのDNA溶液に、ピンツールの384個の独立した針を同時に浸漬し、DNAを針にまぶした。その針を静かにナイロン膜に押し当てることによって、針に付着したDNAをナイロン膜にスポッティングした。スポットしたDNAの変性および、ナイロン膜への固定は定法 (J Sambrook, EF Fritsh, T Maniatis, Molecular Cloning, A laboratory manual / 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に従って行った。

ハイブリダイゼーションのプロープとしては、ラジオアイソトープでラベリングした1st strand cDNAを使用した。1st strand cDNAの合成はThermoscript^(TM) RT-PCR System (GIBCO社製) を用いて行った。すなわち、ヒトの各組織由来mRNA (Clontech社製) の1.5 μ gと、1 μ l 50 μ M Oligo (dT) 20を用いて、50 μ Ci [α -³²P]dATPを添加して付属のプロトコールに従って1st strand cDNAを合成した。プロープの精製は、ProbeQuant^(TM) G-50 micro column (アマシャムファルマシアバイオテック社製) を用いて付属のプロトコールに従って行った。次に、2 units E. coli RNase Hを添加して、室温で10分間インキュベートし、さらに100 μ gヒト COT-1 DNA (GIBCO社製) を添加して、97度で10分間インキュベート後、氷上に静

置してハイブリダイゼーション用のプローブとした。

ラジオアイソトープラベルしたプローブの、DNAアレイへのハイブリダイゼーションは、定法 (J Sambrook, EF Fritsh, T Maniatis, Molecular Cloning, A laboratory manual / 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に従って行った。洗浄は、ナイロン膜を洗浄液 1 (2X SSC, 1% SDS) 中で、室温 (約26度) で20分間のインキュベートを3回洗浄した後、洗浄液2 (0.1X SSC, 1% SDS) 中で、65度で20分間の洗浄を3回行った。オートラジオグラムは、BAS2000 (富士写真フイルム社製) のイメージプレートを用いて取得した。すなわち、ハイブリダイゼーションしたナイロン膜をサランラップに包み、イメージプレートの感光面に密着させて、ラジオアイソトープ感光用のカセットに入れて、暗所で4時間静置した。イメージプレートに記録したラジオアイソトープ活性は、BAS2000を用いて解析し、オートラジオグラムの画像ファイルとして電子的に変換して記録した。各DNAスポットのシグナル強度の解析は、Visage High Density Grid Analysis Systems (ジェノミックソリューションズ社製) を用いて行い、シグナル強度を数値データ化した。データはDuplicateで取得し、その再現性は2つのDNAフィルターを1つのプローブでハイブリダイゼーションして、両フィルターで対応するスポットのシグナル強度を比較した。全スポットの95%が、相当するスポットに対して2倍以内のシグナル値であり、相関係数は $r=0.97$ である。データの再現性は十分といえる。

遺伝子発現解析の検出感度は、ナイロン膜にスポットしたDNAに相補的なプローブを作製し、ハイブリダイゼーションにおける、プローブ濃度依存的なスポットのシグナル強度の増加を検討して見積もった。DNAとしては、PLACE1008092

(GenBank Accession No. AF107253と同一)を使用した。前述の方法でPLACE1008092のDNAアレイを作製した。プローブとしては、PLACE1008092のmRNAをin vitro合成し、このRNAを鋳型として、前述のプローブ作製法と同様にして、ラジオアイソトープでラベリングした1st strand cDNAを合成して使用した。PLACE1008092のmRNA

をin vitro合成するために、pBluescript SK(-)のT7プロモーター側に PLACE1008092の5'末端が結合されるように組み替えたプラスミドを造成した。すなわち、pME18SFL3の制限酵素DraIII認識部位に組み込まれたPLACE1008092を、制限酵素XhoIで切断してPLACE1008092を切り出した。次にXhoIで切断してある pBluescript SK(-)と、切り出したPLACE1008092をDNA ligation kit ver.2 (宝社製)を用いてライゲーションした。pBluescript SK(-)に組み替えたPLACE1008092のmRNAのin vitro合成は、AmpliscribeTM T7 high yield transcription kit (Epicentre technologies社製)を用いて行った。ハイブリダイゼーションおよび各DNAスポットのシグナル値の解析は、前述の方法と同様に行った。プローブ濃度が $1 \times 10^7 \mu\text{g/ml}$ 以下では、プローブ濃度に比例したシグナル増加が無いことから、この濃度域でのシグナルの比較は困難と考えられ、シグナル強度が40以下のスポットは一様に低レベルのシグナルとした。 $1 \times 10^7 \sim 0.1 \mu\text{g/ml}$ の範囲でプローブ濃度依存的なシグナル値の増加があり、検出感度としてはサンプルあたり発現量比が1:100,000のmRNAの検出感度である。

ヒト正常組織 (heart, lung, pituitary gland, thymus, brain, kidney, liver, spleen) における、各cDNAの発現量を0~10,000の数値で示した。その結果、少なくとも1つの組織で発現の認められる遺伝子は以下のクローンである。

HEMBA1002150、HEMBA1002417、HEMBA1003615、HEMBA1003805、HEMBA1004669、
HEMBA1006676、HEMBA1007085、HEMBA1001294、MAMMA1000284、MAMMA1000416、
MAMMA1001388、MAMMA1002143、MAMMA1002351、MAMMA1002461、NT2RM1000039、
NT2RM1000355、NT2RM2000101、NT2RM2001345、NT2RM2001696、NT2RM4001155、
NT2RM4001382、NT2RM4002593、NT2RP2000289、NT2RP2000459、NT2RP2001327、
NT2RP2001420、NT2RP2002193、NT2RP2002208、NT2RP2003272、NT2RP2004013、
NT2RP2005360、NT2RP3001730、NT2RP3002273、NT2RP3002399、NT2RP3003290、
NT2RP3003876、OVARC1001726、PLACE1000786、PLACE1004506、PLACE1005409、

PLACE1006469、PLACE1008947、PLACE3000242、PLACE4000052、THYRO1000401、Y79AA1000258。

またこれら全ての組織で発現の認められる遺伝子は以下のクローンである。
HEMBA1002150、HEMBA1007085、MAMMA1000416、MAMMA1001388、NT2RM1000039。

またこれらどの組織でも発現の低い遺伝子は以下のクローンである。
HEMBA1002475、HEMBA1002716、HEMBA1004055、HEMBA1004889、HEMBA1005621、
HEMBB1001482、HEMBB1002600、NT2RM1000055、NT2RM1001105、NT2RM2000522、
NT2RM2001637、NT2RM4000027、NT2RM4000514、NT2RM4002390、NT2RP2002606、
NT2RP2004242、NT2RP3000109、NT2RP3000605、NT2RP3002818、NT2RP3002948、
NT2RP3004041、NT2RP4000973、OVARC1000781、OVARC1001270、PLACE1000133、
PLACE1001845、PLACE1005603、PLACE1006037、Y79AA1000784、Y79AA1001781。

これらのデータを統計解析することによって、発現に特徴のある遺伝子を選別した。発現量が各組織間において大きく変動する遺伝子を選別する例を示す。

発現の変動の比較的少ないOVARC1000037 {heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP)} の発現に比べて、発現量が各組織間で大きく変動する遺伝子は、以下のように決定した。すなわちOVARC1000037の各組織でのシグナル強度の偏差平方和を求め、自由度7で除して分散 S_a^2 を決定した。次に比較する遺伝子の各組織でのシグナル強度の偏差平方和を求め、自由度7で除してその分散 S_b^2 を決定した。分散比 $F = S_b^2 / S_a^2$ として、F分布の有意水準5%以上の遺伝子を抽出した。その結果、HEMBA1002150、MAMMA1000416、NT2RM1000039、NT2RM1000355が抽出された。このように多数の遺伝子の発現を比較し統計解析することによって、ある遺伝子の発現の特徴を示した。

6. 疾患関連遺伝子の解析

非酵素的蛋白糖化反応は各種糖尿病慢性合併症の原因とされている。したがって糖化蛋白質特異的に発現の上昇または減少する遺伝子は、糖化蛋白質による糖

尿病合併症に関する遺伝子である。血液中に存在する糖化蛋白によって影響を受けるのは、血管壁の細胞である。非酵素的タンパク質糖化反応物には、軽度の糖化タンパク質であるアマドリ化合物 (glycated protein) と、重度の糖化タンパク質である終末糖化物質 (advanced glycosylation endproduct) がある。そこで内皮細胞において、これらタンパク質特異的に発現の変化する遺伝子を探索した。内皮細胞を糖化蛋白質存在下または非存在下で培養してmRNAを抽出し、ラジオアイソトープでラベルした1st strand cDNAプローブを用いて、前記のDNAアレイとハイブリダイゼーションして、各スポットのシグナルをBAS2000で検出して ArrayGauge (富士写真フイルム社製) で解析した。

終末糖化物質ウシ血清アルブミンの調製は、ウシ血清アルブミン (sigma社製) を50mM Glucoseのリン酸バッファー中で37度、8週間インキュベートして褐色化したBSAを、リン酸バッファーに対して透析して行った。

正常ヒト肺動脈内皮細胞 (Cell Applications社製) は、組織培養用のディッシュ (Farcon社製) を用いて、endothelial cell growth medium (Cell Applications社製) 中で、インキュベーター (37度、5% CO₂、加湿) に入れ、培養した。細胞がディッシュにコンフルエントになったところで、ウシ血清アルブミン (sigma社製)、糖化ウシ血清アルブミン (sigma社製) または終末糖化物質ウシ血清アルブミンを250 µg/ml添加して33時間インキュベートした。細胞からのmRNAの抽出は、FastTrackTM 2.0 kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このmRNAを用いて、前記の方法で同様にして行った。

ウシ血清アルブミン、糖化ウシ血清アルブミンまたは終末糖化物質ウシ血清アルブミンを含有する培地で培養したヒト肺動脈内皮細胞の、各cDNAの発現を測定した結果、内皮細胞で発現の認められる遺伝子は以下のクローンである。

HEMBA1003615、HEMBA1003805、HEMBA1004669、HEMBA1007085、HEMBA1001294、HEMBA1002600、MAMMA1000284、MAMMA1000416、MAMMA1001388、MAMMA1002461、

NT2RM1000039、NT2RM1000355、NT2RM2000101、NT2RM2001345、NT2RM2001696、
NT2RM4000514、NT2RM4001382、NT2RP2001327、NT2RP2001420、NT2RP2002208、
NT2RP2002606、NT2RP2003272、NT2RP2004013、NT2RP2004242、NT2RP2005360、
NT2RP3001730、NT2RP3002273、NT2RP3002399、NT2RP3003290、NT2RP3003876、
NT2RP3004041、NT2RP4000973、PLACE1000133、PLACE1001845、PLACE1004506、
PLACE3000242、Y79AA1000784。

7. 神経細胞分化関連遺伝子の解析

神経細胞の分化に関する遺伝子は、神経疾患の治療に有用な遺伝子である。神経系の細胞を分化誘導して発現変化する遺伝子は、神経疾患に関すると考えられる。

神経系の培養細胞NT2を分化誘導（レチノイン酸(RA)刺激）して発現変化する遺伝子を探索した。

NT2細胞の取扱いについては、基本的に付属のINSTRUCTION MANUALに従った。未分化NT2細胞とは、OPTI-MEM I (GIBCO BRL社製、カタログNo. 31985)、10%(v/v) fetal bovine serum(GIBCO BRL社製)、1%(v/v) penicillin-streptomycin(GIBCO BRL社製)の培地で継代していたNT2細胞である。レチノイン酸存在下で培養したNT2細胞とは、未分化NT2細胞をD-MEM(GIBCO BRL社製、カタログNo. 11965)、10%(v/v) fetal bovine serum、1%(v/v) penicillin-streptomycin、10 μ M Retinoic acid(GIBCO BRL社製)のレチノイン酸添加培地に移した後、5週間継代後の細胞である。RA存在下で培養してさらに阻害剤を添加して培養したNT2細胞とは、レチノイン酸添加5週間を経たNT2細胞を細胞分裂阻害剤を添加した培地D-MEM(GIBCO BRL社製、カタログNo. 11965)、10%(v/v) fetal bovine serum、1%(v/v) penicillin-streptomycin、10 μ M Retinoic acid、10 μ M FudR(5-Fluoro-2'-deoxyuridine : GIBCO BRL社製)、10 μ M Urd(Uridine : GIBCO BRL社製)、1 μ M araC(Cytosine β -D-Arabinofuranoside : GIBCO BRL社製)に移した後2週間後の細胞である。それぞれ

の細胞はトリプシン処理して回収後、total RNAの抽出を、S.N.A.P.^(TM) total RNA isolation kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このtotal RNA 10 μ gを用いて、前記の方法で同様に行なった。

データは $n = 3$ で取得し、分化誘導刺激ありの細胞のシグナルと、なしの細胞のシグナルを比較した。比較には二標本t検定の統計処理を行って、シグナル値の分布に有意に差があるクローンを、 $p < 0.05$ で選択した。本解析は、シグナル値の低いクローンであっても差を統計的に検出できる。したがって40以下のシグナル値のクローンに対しても評価を行った。

それぞれ細胞の各遺伝子についてシグナル値の平均 (M_1, M_2) と標本分散 (s_1^2, s_2^2) を求め、比較する2つの細胞の標本分散から合成標本分散 s^2 を求めた。 $t = (M_1 - M_2) / s / (1/3 + 1/3)^{1/2}$ を求めた。自由度4としてt分布表の有意水準の確率Pである0.05と0.01のt値と比較して、値が大きい場合にそれぞれ $P < 0.05$ 、または $P < 0.01$ で両細胞の遺伝子の発現に差があると判定した。

HEMBA1003805、HEMBA1004669、HEMBA1007085、NT2RM1000039、NT2RM1001105、NT2RM2001637、NT2RP2001420、NT2RP2002193、NT2RP2002208、NT2RP2003272、NT2RP3000109、NT2RP3000605、NT2RP3003290、NT2RP3004041、PLACE1001845、PLACE1005409、PLACE3000242 は、RAにより発現が増加した。NT2RM1000355、NT2RP2002193、NT2RP2003272、NT2RP3004041、PLACE1004506、PLACE1005603、PLACE3000242は、RA/阻害剤で発現が増加した。また、NT2RM4002593 はRA/阻害剤で発現が減少した。また、NT2RP2002193、NT2RP2003272、NT2RP3004041、PLACE3000242 はRAと、RA/阻害剤の両方で発現が増加した。これらのクローンは神経疾患に関するクローンである。

8. リウマチ関連遺伝子の解析

慢性関節リュウマチの成因には、関節腔の内面を覆っている滑膜細胞の増殖や、

関節滑膜組織に浸潤した白血球が産生するサイトカインの作用による炎症反応が関係していると考えられている（リュウマチ情報センター、<http://www.rheuma-net.or.jp/>）。最近の研究によれば、tissue necrosis factor (TNF) -alphaが関与することがわかっている（Current opinion in immunology 1999, 11:657-662）。TNFが滑膜細胞に作用して発現変化する遺伝子は、リュウマチに関すると考えられる。

初代培養滑膜細胞をTNF-alpha存在下で培養して発現変化する遺伝子を探索した。初代培養平滑筋細胞（Cell Applications社製）は、培養皿にコンフルエントに培養して、10 ng/ml human TNF-alpha（ペーリンガーマンハイム社製）を終濃度にして添加してさらに24時間培養した。

細胞からのtotal RNAの抽出は、S.N.A.P.^(TM) total RNA isolation kit（Invitrogen社製）を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このtotal RNA 10 μ gを用いて、前記の方法で同様にして行った。データは $n = 3$ で取得し、TNF刺激ありの細胞のシグナル値と、なしの細胞のシグナル値を比較した。比較には二標本t検定の統計処理を行って、シグナル値の分布に有意に差があるクローンを、 $p < 0.05$ で選択した。本解析は、シグナル値の低いクローンであっても差を統計的に検出できる。したがって40以下のシグナル値のクローンに対しても評価を行った。

それぞれ細胞の各遺伝子についてシグナル値の平均 (M_1, M_2) と標本分散 (s_1^2, s_2^2) を求め、比較する2つの細胞の標本分散から合成標本分散 s^2 を求めた。 $t = (M_1 - M_2) / s / (1/3 + 1/3)^{1/2}$ を求めた。自由度4としてt分布表の有意水準の確率Pである0.05と0.01のt値と比較して、値が大きい場合にそれぞれ $P < 0.05$ 、または $P < 0.01$ で両細胞の遺伝子の発現に差があると判定した。

その結果、HEMBA1004889、MAMMA1000416、NT2RM1000039、NT2RM2000101、NT2RM4000514、NT2RP2003272、NT2RP3002399、Y79AA1000784 は、TNF-alphaで発現が増加した。また、HEMBA1002150、NT2RP3003290、OVARC1001270は、TNF-alpha

で発現が減少した。これらのクローンはリュウマチに関するクローンである。

9. 紫外線傷害関連遺伝子の解析

紫外線は健康に少なからず影響を及ぼすことが知られている。近年はオゾン層破壊に伴って紫外線傷害にさらされる機会が多くなっており、皮膚癌などの危険因子として認識されてきている (United States Environmental Protection Agency: Ozone Depletion Home Page, <http://www.epa.gov/ozone/>)。紫外線が皮膚表皮細胞に作用して発現変化する遺伝子は、皮膚の紫外線傷害に関すると考えられる。

紫外線照射した初代培養皮膚由来線維芽細胞を培養して、発現変化する遺伝子を探索した。初代培養皮膚由来線維芽細胞 (Cell Applications社製) は、培養皿にコンフルエントに培養して、254 nmの紫外線を10,000 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$ 照射した。細胞からのmRNAの抽出は、未照射の細胞、照射後4時間または24時間培養した細胞を対象に、FastTrack™ 2.0 mRNA isolation kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このmRNA 1.5 μg を用いて、前記の方法で同様にして行った。データは $n = 3$ で取得し、紫外線刺激ありの細胞のシグナル値と、なしの細胞のシグナル値を比較した。比較には二標本t検定の統計処理を行って、シグナル値の分布に有意に差があるクローンを、 $p < 0.05$ で選択した。本解析は、シグナル値の低いクローンであっても差を統計的に検出できる。したがって40以下のシグナル値のクローンに対しても評価を行った。

それぞれ細胞の各遺伝子についてシグナル値の平均 (M_1, M_2) と標本分散 (s_1^2, s_2^2) を求め、比較する2つの細胞の標本分散から合成標本分散 s^2 を求めた。 $t = (M_1 - M_2) / s / (1/3 + 1/3)^{1/2}$ を求めた。自由度4としてt分布表の有意水準の確率Pである0.05と0.01のt値と比較して、値が大きい場合にそれぞれ $P < 0.05$ 、または $P < 0.01$ で両細胞の遺伝子の発現に差があると判定した。未分化の細胞に比べてシグナル

の平均値が、増加 (+) または減少を (-) 記した。

次のクローンは、紫外線照射によって、4時間後または24時間後に発現が減少した。これらクローンは紫外線傷害に関するクローンである。

HEMBA1002475、HEMBA1004055、HEMBA1004669、HEMBA1006676、HEMBA1007085、
HEMBB1002600、MAMMA1000284、MAMMA1000416、NT2RM1000039、NT2RM2000101、
NT2RM2001696、NT2RM4002593、NT2RP2000459、NT2RP2001327、NT2RP2001420、
NT2RP2002193、NT2RP2002208、NT2RP2003272、NT2RP2004013、NT2RP2004242、
NT2RP3000109、NT2RP3000605、NT2RP3001730、NT2RP3002273、NT2RP3003290、
NT2RP4000973、OVARC1000781、OVARC1001270、OVARC1001726、PLACE1000133、
PLACE1001845、PLACE1004506、PLACE1005409、PLACE1005603、PLACE1006037、
PLACE1006469、PLACE1008947、PLACE3000242、PLACE4000052、THYR01000401、
Y79AA1000784、Y79AA1001781。

産業上の利用の可能性

本発明により、胃癌に関連する遺伝子が提供された。本発明の胃癌関連遺伝子は、胃癌において特異的に発現レベルの変化が見出された遺伝子である。したがって、現在の胃癌の診断および治療が一新される可能性が高い。胃癌のスクリーニングは、現在のところ一定の年齢以上となった健常者を対象として、主に内視鏡やX線検査等の画像診断によって行われている。胃癌に特異性の高い腫瘍マーカーであれば、血清による早期診断が可能になり、単独または従来の方法との組み合わせにより早期胃癌の発見率が向上することが期待される。また、転移マーカーにより、画像診断では検出できない微少転移の存在を予測したり、予後マーカーで治療前に予後を予測したりすることが可能になる。

また、本発明の遺伝子が、胃組織の癌化や悪性度に密接に関連していることから、これらの遺伝子や、それによってコードされる蛋白質は、癌治療の標的分子として有用である。これらの遺伝子や、蛋白質の機能を調節することができる化合物

を見出すことにより、進行癌に有効な抗癌剤を開発することができる。

また本発明により、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3に特異的に発現している遺伝子が提供された。本発明に基づく遺伝子、ならびにそれがコードするタンパク質は、スキルス胃癌の腹膜播種に密接に関連している。したがって、この遺伝子やタンパク質を患者体液や摘出癌組織に検出するとき、その患者の癌は腹膜播種を起こしやすいものであることが予測できる。すなわち本発明は、スキルス胃癌の悪性度の予測に利用することができる。

一方、本発明の遺伝子、あるいはそれがコードするタンパク質は、癌細胞の腹膜播種において、重要な役割を果たしている可能性が高い。したがって、この遺伝子やタンパク質の機能を阻害することによって腹膜播種を予防、あるいは抑制することができる可能性がある。すなわち本発明は、スキルス胃癌の腹膜播種の予防や治療に有用な化合物のスクリーニングに用いることができる。本発明のタンパク質が胃癌の腹膜播種において重要な役割を果たしていると考えられることから、創薬ターゲットとして重要である。

請求の範囲

1. 下記 (a) から (d) のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

(a) 配列番号：1、3、5、7、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、130、132、134、136、138、140、142、144、146、および148に記載された塩基配列のいずれかを含むポリヌクレオチド、

(b) 配列番号：2、4、6、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、131、133、135、137、139、141、143、145、147、および149に記載のアミノ酸配列のいずれかからなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

(c) 配列番号：2、4、6、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、

131、133、135、137、139、141、143、145、147、および149に記載のいずれかのアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および／または付加したアミノ酸配列からなり、前記アミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

(d) 配列番号：1、3、5、7、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、130、132、134、136、138、140、142、144、146、および148に記載されたいずれかの塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされ、前記塩基配列によってコードされるアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

2. 請求項1に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質の部分ペプチドをコードするポリヌクレオチド。
3. 請求項1、または請求項2に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質、または部分ペプチド。
4. 請求項1、または請求項2に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
5. 請求項1、もしくは請求項2に記載のポリヌクレオチド、または請求項4に記載のベクターを保持する形質転換体。
6. 請求項5に記載の形質転換体を培養し、発現産物を回収する工程を含む、請求項3に記載の蛋白質または部分ペプチドの製造方法。

7. 請求項 1、または請求項 2 に記載のポリヌクレオチド、またはその相補鎖に相補的な塩基配列からなる少なくとも 15 塩基の長さを有するポリヌクレオチド。
8. 請求項 3 に記載の蛋白質または部分ペプチドに対する抗体。
9. 請求項 3 に記載の蛋白質と、請求項 8 に記載の抗体の免疫学的な反応を観察する工程を含む、免疫学的測定方法。
10. 次の工程を含む、請求項 1 に記載のポリヌクレオチドの発現を制御する化合物をスクリーニングする方法。
 - (a) 胃癌細胞に候補化合物を接触させる工程、
 - (b) 請求項 1 に記載の (a) に記載の塩基配列からなる遺伝子の胃癌細胞における発現レベルを、対照と比較する工程、
 - (c) 遺伝子の発現レベルを変化させる候補化合物を選択する工程、
11. 胃癌の発生および／または転移の制御における請求項 10 に記載の方法によって得ることができる化合物の使用。
12. 次の工程を含む、胃癌の検出方法。
 - (a) 生体試料中の請求項 1 に記載のポリヌクレオチドを測定する工程、
 - (b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程
13. 次の工程を含む、胃癌の検出方法。
 - (a) 生体試料中の請求項 3 に記載の蛋白質および／または部分ペプチドを測定する工程、
 - (b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程

SEQUENCE LISTING

<110> Helix Research Institute

<120> Genes related to stomach cancer

<130> H1-107PCT5

<140>

<141>

<150> JP 1999-248036

<151> 1999-07-29

<150> JP 1999-300253

<151> 1999-08-27

<150> US 60/159590

<151> 1999-10-18

<150> JP 2000-118776

<151> 2000-01-11

<150> US 60/183322

<151> 2000-02-17

<150> JP 2000-183767

<151> 2000-05-02

<150> H1-107DP4

<151> 2000-06-09

<160> 157

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1672

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (112)..(1410)

<400> 1

gggccacaag gctacagctg ccactgtcgc ctgggtttcc ggccagcgga ggatgatccg 60
caccgctgtg tggacacaga tgagtgccag attgccggtg tgtgccagca gatgtgtgtc 120

2/175

```

aactacgttg gtggcttcga gtgttattgt agcgagggac atgagctgga ggctgatggc 180
atcagctgca gccctgcagg ggccatgggt gccaggcctt cccaggacct cggagatgag 240
ttgctggatg acgggggagga tgaggaagat gaagacgagg cctggaaggc cttcaacggt 300
ggctggacgg agatgccttg gatcctgttg atggagccta cgcagccgcc tgactttgcc 360
ctggcctata gaccgagctt cccagaggac agagagccac agatacccta cccggagccc 420
acctggccac ccccgctcag tgcccccagg gtccctacc actcctcagt gctctccgtc 480
accggcctg tgggtggtctc tgccacgcat cccacactgc cttctgcca ccagcctcct 540
gtgatccctg ccacacaccc agctttgtcc cgtgaccacc agatccccgt gatcgtagcc 600
aactatccag atctgccttc tgccatacaa cccggtattc tctctgtctc tcattcagca 660
cagcctcctg cccaccagcc ccctatgata tcaaccaa atccggagct cttccctgcc 720
caccagtccc ccattgttcc agacacccgg gtccgtggca cccagaccac cactcatttg 780
cctggaatcc cacctaacca tgcccctctg gtccaccacc tcgggtgcca gctaccccct 840
caagccccag atgcccttgt cctcagaacc caggccacc agcttcccat tatcccaact 900
gcccagccct ctctgaccac cacctccagg tcccctgtgt ctctgcca tcaaattctt 960
gtgcctgctg ccaccagcc cgcagccctc cccaccctcc tgccctctca gagccccact 1020
aaccagacct caccatcag ccctacacat cccattcca aagcccccca aatcccaagg 1080
gaagatggcc ccagtcccaa gttggccctg tggctgccct caccagctcc cacagcagcc 1140
ccaacagccc tgggggagga tggctttgcc gagcacagcc agagggatga ccggtggctg 1200
ctggtggcac tcctggtgcc aacgtgtgtc ttttgggtg tcctgcttgc actgggcctc 1260
gtgtactgca cccgctgttg ccccatgca cccaacaag gcatactga ctgctatcgc 1320
tggtgcatcc atgctgggag caagagccca acagaaccca tgccccccag gggcagcctc 1380
acaggggtgc agacctgcag aaccagcgtg tgatggggtg cagaccccc tcattggagta 1440
tggggcgctg gacacatggc cggggctgca ccagggacc atgggggctg cccagctgga 1500
cagatggctt cctgctcccc aggcccagcc agggctcctt ctcaaccact agacttggct 1560
ctcaggaact ctgcttctg gccagcgt cgtgaccaag gataaccaa agcccttaag 1620
acctcagggg gcgggtgctg ggtcttctc caataaatgg ggtgtcaacc tt 1672

```

<210> 2

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

Met Cys Val Asn Tyr Val Gly Gly Phe Glu Cys Tyr Cys Ser Glu Gly
  1             5             10             15
His Glu Leu Glu Ala Asp Gly Ile Ser Cys Ser Pro Ala Gly Ala Met
      20             25             30
Gly Ala Gln Ala Ser Gln Asp Leu Gly Asp Glu Leu Leu Asp Asp Gly
      35             40             45
Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu Ala Trp Lys Ala Phe Asn Gly Gly
      50             55             60
Trp Thr Glu Met Pro Gly Ile Leu Trp Met Glu Pro Thr Gln Pro Pro
      65             70             75             80
Asp Phe Ala Leu Ala Tyr Arg Pro Ser Phe Pro Glu Asp Arg Glu Pro
      85             90             95
Gln Ile Pro Tyr Pro Glu Pro Thr Trp Pro Pro Pro Leu Ser Ala Pro
      100            105            110

```


3/175

Arg Val Pro Tyr His Ser Ser Val Leu Ser Val Thr Arg Pro Val Val
 115 120 125
 Val Ser Ala Thr His Pro Thr Leu Pro Ser Ala His Gln Pro Pro Val
 130 135 140
 Ile Pro Ala Thr His Pro Ala Leu Ser Arg Asp His Gln Ile Pro Val
 145 150 155 160
 Ile Val Ala Asn Tyr Pro Asp Leu Pro Ser Ala Tyr Gln Pro Gly Ile
 165 170 175
 Leu Ser Val Ser His Ser Ala Gln Pro Pro Ala His Gln Pro Pro Met
 180 185 190
 Ile Ser Thr Lys Tyr Pro Glu Leu Phe Pro Ala His Gln Ser Pro Met
 195 200 205
 Phe Pro Asp Thr Arg Val Ala Gly Thr Gln Thr Thr Thr His Leu Pro
 210 215 220
 Gly Ile Pro Pro Asn His Ala Pro Leu Val Thr Thr Leu Gly Ala Gln
 225 230 235 240
 Leu Pro Pro Gln Ala Pro Asp Ala Leu Val Leu Arg Thr Gln Ala Thr
 245 250 255
 Gln Leu Pro Ile Ile Pro Thr Ala Gln Pro Ser Leu Thr Thr Thr Ser
 260 265 270
 Arg Ser Pro Val Ser Pro Ala His Gln Ile Ser Val Pro Ala Ala Thr
 275 280 285
 Gln Pro Ala Ala Leu Pro Thr Leu Leu Pro Ser Gln Ser Pro Thr Asn
 290 295 300
 Gln Thr Ser Pro Ile Ser Pro Thr His Pro His Ser Lys Ala Pro Gln
 305 310 315 320
 Ile Pro Arg Glu Asp Gly Pro Ser Pro Lys Leu Ala Leu Trp Leu Pro
 325 330 335
 Ser Pro Ala Pro Thr Ala Ala Pro Thr Ala Leu Gly Glu Ala Gly Leu
 340 345 350
 Ala Glu His Ser Gln Arg Asp Asp Arg Trp Leu Leu Val Ala Leu Leu
 355 360 365
 Val Pro Thr Cys Val Phe Leu Val Val Leu Leu Ala Leu Gly Ile Val
 370 375 380
 Tyr Cys Thr Arg Cys Gly Pro His Ala Pro Asn Lys Arg Ile Thr Asp
 385 390 395 400
 Cys Tyr Arg Trp Val Ile His Ala Gly Ser Lys Ser Pro Thr Glu Pro
 405 410 415
 Met Pro Pro Arg Gly Ser Leu Thr Gly Val Gln Thr Cys Arg Thr Ser
 420 425 430
 Val

<210> 3

<211> 1831

<212> DNA

<213> Homo sapi ns

4/175

<220>

<221> CDS

<222> (57).. (1700)

<400> 3

```

cagagttgcc cagggaaagc agctatgaca tctacagagt gccagcagt cagagcatgg 60
aggatcgtgg gtacagcccc gacacgcgtg tggctccgtt cctcaagggc aagagcatcg 120
ggctgcggct ggcagggggc aatgacgtgg gcattcttct gtccgggggtg caggcggggca 180
gcccggccga cgggcagggc atccaggagg gagatcagat tctgcagggtg aatgacgtgc 240
cattccagaa cctgacacgg gaggaggcag tgcagttcct gctggggctg ccaccaggcg 300
aggagatgga gctggtgacg cagcgggaagc aggacatttt ctggaaaatg gtgcagtccc 360
gcgtgggtga ctctttctac atccgcactc actttgagct ggagcccagt ccgccgtctg 420
gcctgggctt caccctggtg gacgtcttcc acgtgctgga cagctgcac ccgggccccg 480
ggcagagcca cgcacgagga ggccactggc tggcgggtcg catgggtcgt gacctgcggg 540
agcaagagcg gggcatcatt cccaaccaga gcagggcgga gcagctggcc agcctggaag 600
ctgcccagag ggccgtggga gtccggcccc gctcctccgc gggctccaat gctcggggcg 660
agtcttggtg gctgcggggg ctgcgtcgag gagccaagaa gaccactcag cggagccgtg 720
aggacctctc agctctgacc cgacagggcc gctaccgcc ctacgaacga gtggtgttgc 780
gagaagccag tttcaagcgc ccggtagtga tcctgggacc cgtggccgac attgctatgc 840
agaagttagc tgctgagatg cctgaccagt ttgaaatcgc agagactgtg tccaggaccg 900
acagcccctc caagatcatc aaactagaca ccgtgcgggt gattgcagaa aaagacaagc 960
atgcgctcct ggatgtgacc ccctccgcc tccagcgcct caactatgtg cagtactacc 1020
ccattgtggt cttcttctac ccgagagacc ggccggccct caaggcactg cgccagtggc 1080
tggcgcctgc ctcccgccgc agcaccgcgc gcctctacgc acaagcccag aagctgcgaa 1140
aacacagcag ccacctcttc acagccacca tccctctgaa tggcacgagt gacacctggt 1200
accaggagct caaggccatc attcgagagc agcagacgcg gccatcttgg acggcggaag 1260
atcagctgga tggctccttg gaggacaacc tagacctccc tcaccacggc ctggccgaca 1320
gctccgctga cctcagctgc gacagccgcg ttaacagcga ctacgagacg gacggcgagg 1380
gcggcgcgta cacggatggc gagggtctaca cagacggcga gggggggccc tacacggatg 1440
tggtatgatga gccccggct ccagccctgg ccgggtcctc ggagcccgtg caggcagatg 1500
agtcccagag cccgagggat cgtggggaga tctcgggtca tcagggggcc caggtggaca 1560
gccgccaccc ccagggacag tggcgacagg acagcatgcg aacctatgaa cgggaagccc 1620
tgaagaaaaa gtttacgcga gtccatgatg cggagtcctc cgatgaagac ggctatgact 1680
gggggtccggc cactgacctg tgacctctcg cgggctgcca gctggtccgt cctccttctc 1740
cttccctggg gctgggactc agtttcccat acagaaccca caaccttacc tccctccgcc 1800
tggtctttaa taaacagagt attttcacag c 1831

```

<210> 4

<211> 548

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

```

Met Glu Asp Arg Gly Tyr Ser Pro Asp Thr Arg Val Val Arg Phe Leu
 1             5             10             15
Lys Gly Lys Ser Ile Gly Leu Arg Leu Ala Gly Gly Asn Asp Val Gly

```


5/175

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | 20 | | | | 25 | | | | 30 | | | | |
| Ile | Phe | Val | Ser | Gly | Val | Gln | Ala | Gly | Ser | Pro | Ala | Asp | Gly | Gln | Gly |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Ile | Gln | Glu | Gly | Asp | Gln | Ile | Leu | Gln | Val | Asn | Asp | Val | Pro | Phe | Gln |
| | 50 | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |
| Asn | Leu | Thr | Arg | Glu | Glu | Ala | Val | Gln | Phe | Leu | Leu | Gly | Leu | Pro | Pro |
| 65 | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | |
| Gly | Glu | Glu | Met | Glu | Leu | Val | Thr | Gln | Arg | Lys | Gln | Asp | Ile | Phe | Trp |
| | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | |
| Lys | Met | Val | Gln | Ser | Arg | Val | Gly | Asp | Ser | Phe | Tyr | Ile | Arg | Thr | His |
| | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |
| Phe | Glu | Leu | Glu | Pro | Ser | Pro | Pro | Ser | Gly | Leu | Gly | Phe | Thr | Arg | Gly |
| | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Asp | Val | Phe | His | Val | Leu | Asp | Thr | Leu | His | Pro | Gly | Pro | Gly | Gln | Ser |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| His | Ala | Arg | Gly | Gly | His | Trp | Leu | Ala | Val | Arg | Met | Gly | Arg | Asp | Leu |
| 145 | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 | |
| Arg | Glu | Gln | Glu | Arg | Gly | Ile | Ile | Pro | Asn | Gln | Ser | Arg | Ala | Glu | Gln |
| | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | |
| Leu | Ala | Ser | Leu | Glu | Ala | Ala | Gln | Arg | Ala | Val | Gly | Val | Gly | Pro | Gly |
| | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| Ser | Ser | Ala | Gly | Ser | Asn | Ala | Arg | Ala | Glu | Phe | Trp | Arg | Leu | Arg | Gly |
| | 195 | | | | | 200 | | | | | | 205 | | | |
| Leu | Arg | Arg | Gly | Ala | Lys | Lys | Thr | Thr | Gln | Arg | Ser | Arg | Glu | Asp | Leu |
| 210 | | | | | 215 | | | | | | 220 | | | | |
| Ser | Ala | Leu | Thr | Arg | Gln | Gly | Arg | Tyr | Pro | Pro | Tyr | Glu | Arg | Val | Val |
| 225 | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| Leu | Arg | Glu | Ala | Ser | Phe | Lys | Arg | Pro | Val | Val | Ile | Leu | Gly | Pro | Val |
| | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| Ala | Asp | Ile | Ala | Met | Gln | Lys | Leu | Thr | Ala | Glu | Met | Pro | Asp | Gln | Phe |
| | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| Glu | Ile | Ala | Glu | Thr | Val | Ser | Arg | Thr | Asp | Ser | Pro | Ser | Lys | Ile | Ile |
| | 275 | | | | | 280 | | | | | | 285 | | | |
| Lys | Leu | Asp | Thr | Val | Arg | Val | Ile | Ala | Glu | Lys | Asp | Lys | His | Ala | Leu |
| 290 | | | | | 295 | | | | | | 300 | | | | |
| Leu | Asp | Val | Thr | Pro | Ser | Ala | Ile | Glu | Arg | Leu | Asn | Tyr | Val | Gln | Tyr |
| 305 | | | | 310 | | | | | | 315 | | | | 320 | |
| Tyr | Pro | Ile | Val | Val | Phe | Phe | Ile | Pro | Glu | Ser | Arg | Pro | Ala | Leu | Lys |
| | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | |
| Ala | Leu | Arg | Gln | Trp | Leu | Ala | Pro | Ala | Ser | Arg | Arg | Ser | Thr | Arg | Arg |
| | | 340 | | | | | 345 | | | | | | 350 | | |
| Leu | Tyr | Ala | Gln | Ala | Gln | Lys | Leu | Arg | Lys | His | Ser | Ser | His | Leu | Phe |
| | 355 | | | | | 360 | | | | | | 365 | | | |
| Thr | Ala | Thr | Ile | Pro | Leu | Asn | Gly | Thr | Ser | Asp | Thr | Trp | Tyr | Gln | Glu |
| | 370 | | | | 375 | | | | | | 380 | | | | |
| Leu | Lys | Ala | Ile | Ile | Arg | Glu | Gln | Gln | Thr | Arg | Pro | Ile | Trp | Thr | Ala |
| 385 | | | | 390 | | | | | | 395 | | | | 400 | |
| Glu | Asp | Gln | Leu | Asp | Gly | Ser | Leu | Glu | Asp | Asn | Leu | Asp | Leu | Pro | His |

7/175

```

tcgaagacca gccacgtggg agtccccgcg tcgctgcagg ccccggtccc agtcaagaca 1080
tcactctttc gagtgaggag gaagcagaag tggcagctcc cacaaaaggc cctgccccag 1140
ctccccagca gtgctcagag ccagagacca agtggctctc cataccagct tcgaagccac 1200
ggagggggac agctcccacg aggaccgcag cccccccctg gccaggcggt gtctctgttc 1260
gcacagggtcc ggagaagcgc agcagcacca ggccccctgc tgagatggag ccggggaagg 1320
gtgagcaggc ctctctgtcg gagagtgacc cggagggacc cattgctgca caaatgctgt 1380
ccttcgtcat ggatgacccc gactttgagg gcgagggatc agacacacag cgcagggcgg 1440
atgactttcc cgtgcgagat gacccctccg atgtgactga cgaggatgag ggccctgcgc 1500
agccgcccc accccccaag ctccctctcc ccgccttcag actgaagaat gactcggacc 1560
tcttcgggt ggggctggag gaggcggac ccaaggagag cagtgaggaa ggtaaggagg 1620
gcaaaacccc ctctaaggag aag                                     1643

```

<210> 6
 <211> 539
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Asn | Asp | Pro | Gln | Glu | Ala | Glu | Ser | Glu | Met | Ala | Leu | Asp | Ala | 1 | 5 | 10 | 15 |
| Glu | Phe | Leu | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Cys | Asn | Gly | Val | Val | Met | Met | Phe | 20 | 25 | 30 | |
| Asp | Ile | Thr | Lys | Gln | Trp | Thr | Phe | Asn | Tyr | Ile | Leu | Arg | Glu | Leu | Pro | 35 | 40 | 45 | |
| Lys | Val | Pro | Thr | His | Val | Pro | Val | Cys | Val | Leu | Gly | Asn | Tyr | Arg | Asp | 50 | 55 | 60 | |
| Met | Gly | Glu | His | Arg | Val | Ile | Leu | Pro | Asp | Asp | Val | Arg | Asp | Phe | Ile | 65 | 70 | 75 | 80 |
| Asp | Asn | Leu | Asp | Arg | Pro | Pro | Gly | Ser | Ser | Tyr | Phe | Arg | Tyr | Ala | Glu | 85 | 90 | 95 | |
| Ser | Ser | Met | Lys | Asn | Ser | Phe | Gly | Leu | Lys | Tyr | Leu | His | Lys | Phe | Phe | 100 | 105 | 110 | |
| Asn | Ile | Pro | Phe | Leu | Gln | Leu | Gln | Arg | Glu | Thr | Leu | Leu | Arg | Gln | Leu | 115 | 120 | 125 | |
| Glu | Thr | Asn | Gln | Leu | Asp | Met | Asp | Ala | Thr | Leu | Glu | Glu | Leu | Ser | Val | 130 | 135 | 140 | |
| Gln | Gln | Glu | Thr | Glu | Asp | Gln | Asn | Tyr | Gly | Ile | Phe | Leu | Glu | Met | Met | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Glu | Ala | Arg | Ser | Arg | Gly | His | Ala | Ser | Pro | Leu | Ala | Ala | Asn | Gly | Gln | 165 | 170 | 175 | |
| Ser | Pro | Ser | Pro | Gly | Ser | Gln | Ser | Pro | Val | Val | Pro | Ala | Gly | Ala | Val | 180 | 185 | 190 | |
| Ser | Thr | Gly | Ser | Cys | Ser | Pro | Gly | Thr | Pro | Gln | Pro | Ala | Pro | Gln | Leu | 195 | 200 | 205 | |
| Pro | Leu | Asn | Ala | Ala | Pro | Pro | Ser | Ser | Val | Pro | Pro | Val | Pro | Pro | Ser | 210 | 215 | 220 | |
| Glu | Ala | Leu | Pro | Pro | Pro | Ala | Cys | Pro | Ser | Ala | Pro | Ala | Pro | Arg | Arg | | | | |

8/175

```

225          230          235          240
Ser Ile Ile Ser Arg Leu Phe Gly Thr Ser Pro Ala Thr Glu Ala Ala
          245          250          255
Pro Pro Pro Pro Glu Pro Val Pro Ala Ala Gln Gly Pro Ala Thr Val
          260          265          270
Gln Ser Val Glu Asp Phe Val Pro Asp Asp Arg Leu Asp Arg Ser Phe
          275          280          285
Leu Glu Asp Thr Thr Pro Ala Arg Asp Glu Lys Lys Val Gly Ala Lys
          290          295          300
Ala Ala Gln Gln Asp Ser Asp Ser Asp Gly Glu Ala Leu Gly Gly Asn
305          310          315          320
Pro Met Val Ala Gly Phe Gln Asp Asp Val Asp Leu Glu Asp Gln Pro
          325          330          335
Arg Gly Ser Pro Pro Leu Pro Ala Gly Pro Val Pro Ser Gln Asp Ile
          340          345          350
Thr Leu Ser Ser Glu Glu Glu Ala Glu Val Ala Ala Pro Thr Lys Gly
          355          360          365
Pro Ala Pro Ala Pro Gln Gln Cys Ser Glu Pro Glu Thr Lys Trp Ser
          370          375          380
Ser Ile Pro Ala Ser Lys Pro Arg Arg Gly Thr Ala Pro Thr Arg Thr
385          390          395          400
Ala Ala Pro Pro Trp Pro Gly Gly Val Ser Val Arg Thr Gly Pro Glu
          405          410          415
Lys Arg Ser Ser Thr Arg Pro Pro Ala Glu Met Glu Pro Gly Lys Gly
          420          425          430
Glu Gln Ala Ser Ser Ser Glu Ser Asp Pro Glu Gly Pro Ile Ala Ala
          435          440          445
Gln Met Leu Ser Phe Val Met Asp Asp Pro Asp Phe Glu Gly Glu Gly
          450          455          460
Ser Asp Thr Gln Arg Arg Ala Asp Asp Phe Pro Val Arg Asp Asp Pro
465          470          475          480
Ser Asp Val Thr Asp Glu Asp Glu Gly Pro Ala Glu Pro Pro Pro Pro
          485          490          495
Pro Lys Leu Pro Leu Pro Ala Phe Arg Leu Lys Asn Asp Ser Asp Leu
          500          505          510
Phe Gly Leu Gly Leu Glu Glu Ala Gly Pro Lys Glu Ser Ser Glu Glu
          515          520          525
Gly Lys Glu Gly Lys Thr Pro Ser Lys Glu Lys
          530          535

```

<210> 7

<211> 1673

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

aatcatgtta gattttctga gagtgaaaac acctgccatc tacaaattac aaggctggat 60

9/175

```

aacagctcac tccattigaa attcagtgga aacccaagag ctaggttctt actgaatttg 120
catctcaatt tgggaaactg aacttagctt tcaaagatca taggaagtct ggttggagaa 180
actagggatt attctggcaa tgggtgcagg aagggtgtca gaataaccca gtcgccattg 240
gttttgagaa acggaactat cttatgcaga gcccgaggag caagtctcag acccatgggt 300
tgaagccatg gagaaggaaa tttggatcca atgtaatgaa gcgctttcta agtcagaatt 360
tccctgcaat ggtgtggcct gattcaataa aaattaagaa taataaatat aatggaaaaa 420
aatctccact gattgagtgt ttacttgggt ccaagcacta tgctaagttg ttcattatit 480
tatttaattg ttacagcaat tttgagtatg catctttcac tattttataa gtggaaaaga 540
gaagtgcctc caaaaagtta gagctcaaac agcagcttat tctaccagcc cctgctcttg 600
cggaggcctc tggaaaagac ctgaatgaca cctattggag aatcacatct acaaggggct 660
tcaaacagac caaatagatc atcacctctg tggctccctg ttaactatat gttctgagac 720
aaaggaaagc taccctaagg gttagttaac ctttgcctgag gaaatttaca ttcatactta 780
gagtgaatta ctccaggtgtg cttaggtgtg caaaagggaa ggagacctga attaccaag 840
ttaaatcttg ctaaacctta tcataagcat tttttgagcg cttagcatac accaagcctt 900
gtggaagggt ctttctctgc atatctcatt taatcctcac agcaaaccta tagaatatgg 960
cattatcgtc tgagtctcac agaagtttag tctgttactc aaggctttac cagctagtga 1020
acagcagacc aagactggaa acccaggata gtctgatacc tgagccatct cttcttgtgc 1080
tacgcctagt tattctgtcc cccaaatcaa aaggcatgac ctttataaga ggcgctttac 1140
tgacaatagc tgcaatttta actttgaaaa tgattcagaa ttatcaaaga tagtagattc 1200
gaatgacatg attgtctata atctcgctag ccttgtactg tgtgtgcata gcaattacag 1260
ggaagtaatc tagctcctga ctattatgtc gaactatgtc gctgcttttt aaaaacttgt 1320
cttgatccaa agcagtcaca atgataaacc tgcatatctg ggaatcataa gtcaactatg 1380
tatccctgtg tgtgtatata tatgtatgta tgtatctatt ttcaaactgt gatttaatat 1440
ttaaatattc ctactgccat ttttgtgact gaaaaactac acatgaggaa acgtcttaga 1500
attttccaat agaggaaaaa taacacttgg gcaatctgtc atgtttcaca acagttctca 1560
tttttctcat gatttgtgta gcgtggaatg tgtttgcaca atgtgaaggg ttttcattgc 1620
tcaatttctc tgtgtaagtc ttttcttaa ggtaataaac catcagcaaa gtc 1673

```

<210> 8

<211> 1712

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (485).. (1249)

<400> 8

```

ctcacgcagc caacatggct ccagtggagc acgttgtggc ggatgctggg gctttcctgc 60
ggcatgcggc tctgcaggac atcggaaga acatttacac catccgggag gtggtcactg 120
agattcgga caaggccaca cgcaggcggc tgcgtgtcct gccctacgag ctgcggttca 180
aggagccctt accggaatac gtgcggctgg tgactgagtt ttcaaagaaa acaggagact 240
acccagccct ctctgccacg gacatccaag tgttgcactc acataccagt tggaagcaga 300
gtttgttggg gtgtctcacc taaaacaaga accacagaag gttaagggtga gctcatcgat 360
tcagcaccca gaaacacctc tgcacatttc tggtttccat ctgccctaca agcctaaacc 420
cccacaagaa acagaaaaag gacactcagc ttgtgagcct gagaacctgg aatttagttc 480
cttcatgttc tggagaaacc ctttgcccaa catcgatcat gaactgcagg agctgctgat 540

```


10/175

```

tgacagaggt gaggacgttc caagtgagga ggaggaggag gaagaaaacg ggtttgaaga 600
cagaaaagat gacagcgatg acgacggggg tggctggata acccccagta acatcaagca 660
gatccagcag gagctggagc agtgtgacgt ccccgaggac gtgcgggttg gctgcctgac 720
cacagacttc gccatgcaga atgttctgct gcagatgggg ctgcacgtgc tggcgggtgaa 780
cggcatgctg attcgtgagg cccggagcta catcttgcgc tgccatggct gtttcaagac 840
aacgtctgac atgagccgag tgttctgctc acactgtggg aacaagacc tgaagaaagt 900
gtccgtgacc gtcagcgacg acggcacccct gcacatgcac ttctccgca accccaaggt 960
gctgaacccc cgcggcctcc ggtactcgtc tcccactccc aaagggggca aatacgccat 1020
caacccccat ctcaccgagg atcagcgctt ccctcagctg cgactctccc aaaaggccag 1080
gcagaaaacc aacgtgttcg cccctgacta catcgccggg gtgtcaccct ttgtcgagaa 1140
tgacatctcc agccgctcag ctaccctgca ggtccgggac agcaccttgg gagctgggag 1200
gagacgttta aatcccaacg cttccagaaa gaagtttgtg aagaaaaggt gaagagcgag 1260
ttcccgagg caaattggat gggcgtctgg ccgccgtgga gttccgggtga cccatttccc 1320
cagccgtgtc gtctccagga ccaccgatg gaaataacag gcggggttca cgggtgcggct 1380
ctgtccgccc atgccccgct ggtctgcag ggaactggac tgtcccatgg cctgtgagca 1440
ccggagcgcc tggctgcctg ccaaggaagt gcaattgcat aaaaacagaa agaacaacgc 1500
cctggagcca atcttcaaga aaggaatttc caaaggataa tatttttcta ataatgcgg 1560
ctgcaacctc ctgtgcattt aattaaatag gccaaatttt tgctgcttag gtcattctcaa 1620
ggctgatact tgagctgtgt gccagagat catgcattta gatttatatt tttgccagaa 1680
aatacaaggt tataataaaa ctaagaacta cc 1712

```

<210> 9

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

```

Met Phe Trp Arg Asn Pro Leu Pro Asn Ile Asp His Glu Leu Gln Glu
  1             5             10             15
Leu Leu Ile Asp Arg Gly Glu Asp Val Pro Ser Glu Glu Glu Glu Glu
          20             25             30
Glu Glu Asn Gly Phe Glu Asp Arg Lys Asp Asp Ser Asp Asp Asp Gly
          35             40             45
Gly Gly Trp Ile Thr Pro Ser Asn Ile Lys Gln Ile Gln Gln Glu Leu
          50             55             60
Glu Gln Cys Asp Val Pro Glu Asp Val Arg Val Gly Cys Leu Thr Thr
          65             70             75             80
Asp Phe Ala Met Gln Asn Val Leu Leu Gln Met Gly Leu His Val Leu
          85             90             95
Ala Val Asn Gly Met Leu Ile Arg Glu Ala Arg Ser Tyr Ile Leu Arg
          100            105            110
Cys His Gly Cys Phe Lys Thr Thr Ser Asp Met Ser Arg Val Phe Cys
          115            120            125
Ser His Cys Gly Asn Lys Thr Leu Lys Lys Val Ser Val Thr Val Ser
          130            135            140
Asp Asp Gly Thr Leu His M t His Phe Ser Arg Asn Pro Lys Val Leu
          145            150            155            160

```


11/175

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Pro | Arg | Gly | Leu | Arg | Tyr | Ser | Leu | Pro | Thr | Pro | Lys | Gly | Gly | Lys |
| | | | 165 | | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Tyr | Ala | Ile | Asn | Pro | His | Leu | Thr | Glu | Asp | Gln | Arg | Phe | Pro | Gln | Leu |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Arg | Leu | Ser | Gln | Lys | Ala | Arg | Gln | Lys | Thr | Asn | Val | Phe | Ala | Pro | Asp |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Tyr | Ile | Ala | Gly | Val | Ser | Pro | Phe | Val | Glu | Asn | Asp | Ile | Ser | Ser | Arg |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Ser | Ala | Thr | Leu | Gln | Val | Arg | Asp | Ser | Thr | Leu | Gly | Ala | Gly | Arg | Arg |
| 225 | | | | 230 | | | | | | 235 | | | | 240 | |
| Arg | Leu | Asn | Pro | Asn | Ala | Ser | Arg | Lys | Lys | Phe | Val | Lys | Lys | Arg | |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |

<210> 10

<211> 1993

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (13).. (981)

<400> 10

```

ccagattacc tgatgcagct gatgaacgac aagaagctca tgagcagcct gccaacttc 60
tgcgggatct tcaaccacct cgagcggctg ctggacgaag aaattagcag agtacggaaa 120
gacatgtaca atgacacatt aaatggcagt acagagaaaa ggagtgcaga atigcctgat 180
gctgtgggac ctattgttca gttacaagag aaactttatg tgcctgtaaa agaataccca 240
gatttttaatt ttgttgggag aatccttgga cctagaggac ttacagccaa acaacttgaa 300
gcagaaaccg gatgtaaaat catggtccga ggcaaaggct caatgaggga taaaaaaaag 360
gaggagcaaa atagaggcaa gccaattgg gagcatctaa atgaagattt acatgtacta 420
atcactgtgg aagatgctca gaacagagca gaaatcaaat tgaagagagc agttgaagaa 480
gtgaagaaat tattggtacc tgcagcagaa ggagaagaca gcctgaagaa gatgcagctg 540
atggagcttg cgattctgaa tggcacctac agagatgcca acattaaatc accagccctt 600
gccttttctc ttgcagcaac agcccaggct gctccaagga tcattactgg gcctgcgccg 660
gttctccac cagctgcctt gcgtactcct acgccagctg gccctaccat aatgcctttg 720
atcagacaaa tacagaccgc tgtcatgcca aacggaactc ctcacccaac tgctgcaata 780
gttctccag ggcccgaagc tggtttaatc tatacacctt atgagtacct ctacacattg 840
gcaccagcta catcaatcct tgagtatcct attgaacctt gtggtgtatt aggtgcggtg 900
gctactaaag ttcgaaggca cgatatgcgt gtccatcctt accaaaggat tgtgaccgca 960
gaccgagccg ccaccggcaa ctaacctatg accttctgac ctctgaactc ttcacccaat 1020
gatgacctga ccatgcctgc ctgctgatca gtttaactggt aatcgccctt gcttgccctg 1080
cgctcagtga gcgagctgag gcaactgtcc gttcgtctta ccatctaacc aaacaaaaga 1140
caaagaaatt gttgtcctcc aactcagctt tttttttttt tttttcctgt ttgggtgaaa 1200
gtgggttctag aaactgcact gaatagtagt aaagcaataa ggcccaattc atcccacagc 1260
actgatcatc ttttaatatc ccaccctaag cgaacggtaa gaaggcctct cttagaagg 1320
ggagacagat ggtccttaac tactcaatga cagaggcagt tactgtgaga gacttctagg 1380
aatctttttc ttctcatagc gaagtcaaag ctctctctga atgtactgtg tgatgatgca 1440

```


12/175

```

tcatgcatga accttcgggc agggatatca ttggtgaagt gatttcaaaa agtattcaaa 1500
atttgatatg ctgtttagtc actacagtgc cctcaaaggg cagaagttgc agcctttttt 1560
atattgcctg ccaaaatttg aagtattaga agaaagtgtg ccatgagaga aaaacttaag 1620
gagttttgaa aagtaatgca aataacaaaa ctgcaacact atttttaaaa agataaatat 1680
ctgagttaaa attactgaat ctttatittta cacctaaaaa aatatgagaa caaggtacat 1740
gcattatgtg tcacattact gggcaaactg ttcaagtatt tttttttaaa cctccctgta 1800
tagaaaaaaa tcattaagga tgtaaaagcc atgcttgcct atttgctgta tacatgtaat 1860
gaaattgtag ataaagtgtg gtgcattgaa acaaatgaac aaaaagtaga tacttttact 1920
atacaagggt gctggtgcag aaaaaaatat atatattttt ggaaatgtag cattttatac 1980
tttcaagtgt tat 1993

```

<210> 11

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

```

Met Gln Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Met Ser Ser Leu Pro Asn Phe
  1             5             10             15
Cys Gly Ile Phe Asn His Leu Glu Arg Leu Leu Asp Glu Glu Ile Ser
          20             25             30
Arg Val Arg Lys Asp Met Tyr Asn Asp Thr Leu Asn Gly Ser Thr Glu
          35             40             45
Lys Arg Ser Ala Glu Leu Pro Asp Ala Val Gly Pro Ile Val Gln Leu
          50             55             60
Gln Glu Lys Leu Tyr Val Pro Val Lys Glu Tyr Pro Asp Phe Asn Phe
          65             70             75             80
Val Gly Arg Ile Leu Gly Pro Arg Gly Leu Thr Ala Lys Gln Leu Glu
          85             90             95
Ala Glu Thr Gly Cys Lys Ile Met Val Arg Gly Lys Gly Ser Met Arg
          100            105            110
Asp Lys Lys Lys Glu Glu Gln Asn Arg Gly Lys Pro Asn Trp Glu His
          115            120            125
Leu Asn Glu Asp Leu His Val Leu Ile Thr Val Glu Asp Ala Gln Asn
          130            135            140
Arg Ala Glu Ile Lys Leu Lys Arg Ala Val Glu Glu Val Lys Lys Leu
          145            150            155            160
Leu Val Pro Ala Ala Glu Gly Glu Asp Ser Leu Lys Lys Met Gln Leu
          165            170            175
Met Glu Leu Ala Ile Leu Asn Gly Thr Tyr Arg Asp Ala Asn Ile Lys
          180            185            190
Ser Pro Ala Leu Ala Phe Ser Leu Ala Ala Thr Ala Gln Ala Ala Pro
          195            200            205
Arg Ile Ile Thr Gly Pro Ala Pro Val Leu Pro Pro Ala Ala Leu Arg
          210            215            220
Thr Pro Thr Pro Ala Gly Pro Thr Ile Met Pro Leu Ile Arg Gln Ile
          225            230            235            240

```


13/175

Gln Thr Ala Val Met Pro Asn Gly Thr Pro His Pro Thr Ala Ala Ile
 245 250 255
 Val Pro Pro Gly Pro Glu Ala Gly Leu Ile Tyr Thr Pro Tyr Glu Tyr
 260 265 270
 Pro Tyr Thr Leu Ala Pro Ala Thr Ser Ile Leu Glu Tyr Pro Ile Glu
 275 280 285
 Pro Ser Gly Val Leu Gly Ala Val Ala Thr Lys Val Arg Arg His Asp
 290 295 300
 Met Arg Val His Pro Tyr Gln Arg Ile Val Thr Ala Asp Arg Ala Ala
 305 310 315 320
 Thr Gly Asn

<210> 12

<211> 1570

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (101).. (1147)

<400> 12

acgatttgaa cgctctgcct tgcagctcct ctggaccgag gagcccaaag ccctaccctc 60
 accattcacc aggttacagt tcttatccac gtgaatacac atggctctgt tacgaaaaat 120
 taatcaggtg ctgctgttcc ttctgatcgt gacctctgt gtgattctgt ataagaaagt 180
 tcataagggg actgtgcca agaatgacac agatgatgaa tccgagactc ctgaagaact 240
 ggaagaagag attcctgtgg tgatttgtgc tgcagcaggg aggatgggtg ccactatggc 300
 tgccatcaat agcttctaca gcaacactga ogccaaacat ttgttctatg tagtgggact 360
 ccggaatact ctgactcgaa tacgaaaatg gattgaacat tccaaactga gagaaataaa 420
 ctttaaaatc gtggaattca acccgatggg cctcaaaggg aagatcagac cagactcact 480
 gaggcctgaa ttgctccagc ctctgaactt tgttcgattt tatctccctc tacttatcca 540
 ccaacacgag aaagtcactt atttggacga tgatgtaatt gtacaagggtg atatccaaga 600
 actgtatgac accaccttgg ccctgggcca cgcgccggct ttctcagatg actgcgattt 660
 gccctctgct caggacataa acagaactcgt gggacttcag aacacatata tgggctatct 720
 ggactaccgg aagaaggcca tcaaggacct tggcatcagc ccagcacct gctctttcga 780
 tcctgggtgtg attgttgcca acatgacaga atggaagcac cagcgcatca ccaagcaatt 840
 ggagaaatgg atgcaaaaaga atgtggagga aaacctctat agcagctccc tgggaggagg 900
 ggtggccacc tccccaatgc tgattgtgtt tcatgggaaa tattccacaa ttaacccctc 960
 gtggcacata aggcacctgg gctggaatcc agatgccaga tattcggagc attttctgca 1020
 ggaagctaaa ttactccact ggaatggaag acataaacct tgggacttcc ctagtgttca 1080
 caacgactta tgggaaagct ggtttgttcc tgacctgca gggatattta aactcaatca 1140
 ccatagctga tataactcta cccttaaaat attccctgta tagaaatgtg gaattgtccc 1200
 ttgttagcca actataacat tgttctttat gaattattacc ttgtatcat atgatccaca 1260
 atataaaaac caaaaactac tgtgtgcaaa ttataacctg gaccatatag gcattgatta 1320
 acttctttta gtacatgtga taactatgga aatcaagatt atgtgactga aaaacataaa 1380
 ggaagagacc catctagata acagcaatca acctgcttaa ttctgaatga caattatatc 1440

14/175

cacaaatttt taaaacttct acatgtattt ttcacatgaa gatctcctta acaggttgcc 1500
 aaccttttct ttatataaac tattacattt aaaatatgga cgtctgaaaa ataaaatatt 1560
 catcattttt 1570

<210> 13

<211> 349

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ala | Leu | Leu | Arg | Lys | Ile | Asn | Gln | Val | Leu | Leu | Phe | Leu | Leu | Ile |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Val | Thr | Leu | Cys | Val | Ile | Leu | Tyr | Lys | Lys | Val | His | Lys | Gly | Thr | Val |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Pro | Lys | Asn | Asp | Thr | Asp | Asp | Glu | Ser | Glu | Thr | Pro | Glu | Glu | Leu | Glu |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | 45 | | | | |
| Glu | Glu | Ile | Pro | Val | Val | Ile | Cys | Ala | Ala | Ala | Gly | Arg | Met | Gly | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Thr | Met | Ala | Ala | Ile | Asn | Ser | Phe | Tyr | Ser | Asn | Thr | Asp | Ala | Asn | Ile |
| | 65 | | | | 70 | | | | | 75 | | | | 80 | |
| Leu | Phe | Tyr | Val | Val | Gly | Leu | Arg | Asn | Thr | Leu | Thr | Arg | Ile | Arg | Lys |
| | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | |
| Trp | Ile | Glu | His | Ser | Lys | Leu | Arg | Glu | Ile | Asn | Phe | Lys | Ile | Val | Glu |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Phe | Asn | Pro | Met | Val | Leu | Lys | Gly | Lys | Ile | Arg | Pro | Asp | Ser | Ser | Arg |
| | 115 | | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Pro | Glu | Leu | Leu | Gln | Pro | Leu | Asn | Phe | Val | Arg | Phe | Tyr | Leu | Pro | Leu |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Leu | Ile | His | Gln | His | Glu | Lys | Val | Ile | Tyr | Leu | Asp | Asp | Asp | Val | Ile |
| | 145 | | | | 150 | | | | | 155 | | | | 160 | |
| Val | Gln | Gly | Asp | Ile | Gln | Glu | Leu | Tyr | Asp | Thr | Thr | Leu | Ala | Leu | Gly |
| | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | |
| His | Ala | Ala | Ala | Phe | Ser | Asp | Asp | Cys | Asp | Leu | Pro | Ser | Ala | Gln | Asp |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ile | Asn | Arg | Leu | Val | Gly | Leu | Gln | Asn | Thr | Tyr | Met | Gly | Tyr | Leu | Asp |
| | 195 | | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Tyr | Arg | Lys | Lys | Ala | Ile | Lys | Asp | Leu | Gly | Ile | Ser | Pro | Ser | Thr | Cys |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Ser | Phe | Asp | Pro | Gly | Val | Ile | Val | Ala | Asn | Met | Thr | Glu | Trp | Lys | His |
| | 225 | | | | 230 | | | | | 235 | | | | 240 | |
| Gln | Arg | Ile | Thr | Lys | Gln | Leu | Glu | Lys | Trp | Met | Gln | Lys | Asn | Val | Glu |
| | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| Glu | Asn | Leu | Tyr | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Gly | Gly | Val | Ala | Thr | Ser | Pro |
| | 260 | | | | | | | 265 | | | | 270 | | | |
| Met | Leu | Ile | Val | Phe | His | Gly | Lys | Tyr | Ser | Thr | Ile | Asn | Pro | Leu | Trp |
| | 275 | | | | | 280 | | | | | | 285 | | | |
| His | Ile | Arg | His | Leu | Gly | Trp | Asn | Pro | Asp | Ala | Arg | Tyr | Ser | Glu | His |

15/175

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 290 | | 295 | | 300 | | | | | | | | | | | |
| Phe | Leu | Gln | Glu | Ala | Lys | Leu | Leu | His | Trp | Asn | Gly | Arg | His | Lys | Pro |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Trp | Asp | Phe | Pro | Ser | Val | His | Asn | Asp | Leu | Trp | Glu | Ser | Trp | Phe | Val |
| | | | 325 | | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Pro | Asp | Pro | Ala | Gly | Ile | Phe | Lys | Leu | Asn | His | His | Ser | | | |
| | | | 340 | | | | | | 345 | | | | | | |

<210> 14
 <211> 1962
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (213).. (938)

<400> 14

```

agtgcgcattc cggacgtagg aggtggagggt tgtggaattc gccgttcgaa agcagggact 60
aaaagcccca cttcgtctta cgttcgaaa ggaaggcgtc tgttgagcct ttctctcagt 120
cgtgaggag ggcgtcgacgg cgtgcggaag tcctgagttg aggcttgagg gatcctttcc 180
ggagaaagcg caggctaaag ccgcagggtga agatgtccaa ctacgtgaac gacatgtggc 240
cgggctcgcc gcaggagaag gattcgccct cgacctcgcg gtcgggcggg tccagccggc 300
tgtctcgcg gtctaggagc cgctcttttt ccagaagctc tcgggtccat tcccgcgtct 360
cgagccggtt ttcgtccagg agtcggagga gcaagtccag gtcccgttcc cgaaggcgcc 420
accagcggaa gtacaggcgc tactcgcggt cactactcgcg gagccggtcg cgatcccga 480
gccgccgtta ccgagagagg cgctacgggt tcaccaggag atactaccgg tctccttcgc 540
ggtaccggtc ccggtcccgt agcaggtcgc gctctcgggg aaggctgtac tgcggaaggg 600
cgtacgcgat cgcgcgggga cagcgctact acggctttgg tcgcacagtg taccggagg 660
agcacagcag atggaggagc agatccagga cgaggtcgag gagcagaacc ccctttcgct 720
taagtgaata agatcgaatg gagctgttag aaatagcaaa aaccaatgca gcgaaagctc 780
taggaacaac caacattgac ttgccagcta gtctcagaac tgttccttca gccaaagaaa 840
caagccgtgg aatagggtga tcaagtaatg gtgcaaagcc tgaagtaagt attctaggtt 900
tgtcggaaca aaactttcag aaagccaact gtcaaactct attagccact tatatcttag 960
actatacttt ttgggaagtc tagagatgta tataatgtgc taaattcaaa gtagcaaata 1020
tgaagatagg caatgtcaaa cccatgaaaa tgggagatta atgagcttta tttggccgtg 1080
catggtgcct catgcctgta atgaggcaga tggcttgagt ccaggagttc aagactagcc 1140
tgggcaatgt ggcaaaaccg cgtgtttaca aaaaatacaa aaattagcca ggcatggtgg 1200
tgcattgcct tagtccagc tgtttgggag gctgaggcag gaggatcttt gaggctagga 1260
tgctaagggt gcagtggacc aagatggcac cattgcactc tagcctgggc agcagagcga 1320
gacctgtct caaaaaatac atttattttt ttcatcttca gttaacagtg tactcttata 1380
acaccgttat tagctgggtac ttgtgtgatt tctattacta gtttttctaa gctattttaca 1440
gagtgtttgt agctttcatt tgcagcatta tgttcccaca aattctgtac tcagcatata 1500
cagtatatgt tatctgctct atttctgtct tatagaaatc atgaatgtgg tctgcagaca 1560
ttgatgaaga aaatctgttg gtaattgata catgggctaa agcatcagag gtttaatttg 1620
aagtttatgt tcacacactg aaaacttagt tttttgttg gtagatccat gtgcatgcta 1680
gaatttggga caggcactat ttgcataaag tattaaagtc aatttttaaa ctaagcaaag 1740

```


16/175

gtacacgttg taacggtggg gcattctgtga aaaagatgtc cctttcataa tatatgcaat 1800
 atattccaga tgttttgaga gattacagaa gaggaggcct gcttcacttg cagataagtt 1860
 tattataatt ctccagaaat gtgcaggatg tgcattagca aattgcaactg tacttttcac 1920
 tccagcctgg gtgacagagc aagactcccg tctcgggggc tt 1962

<210> 15
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 15
 Met Ser Asn Tyr Val Asn Asp Met Trp Pro Gly Ser Pro Gln Glu Lys
 1 5 10 15
 Asp Ser Pro Ser Thr Ser Arg Ser Gly Gly Ser Ser Arg Leu Ser Ser
 20 25 30
 Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg Ser Ser Arg Ser His Ser Arg
 35 40 45
 Val Ser Ser Arg Phe Ser Ser Arg Ser Arg Arg Ser Lys Ser Arg Ser
 50 55 60
 Arg Ser Arg Arg Arg His Gln Arg Lys Tyr Arg Arg Tyr Ser Arg Ser
 65 70 75 80
 Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Arg Tyr Arg Glu Arg
 85 90 95
 Arg Tyr Gly Phe Thr Arg Arg Tyr Tyr Arg Ser Pro Ser Arg Tyr Arg
 100 105 110
 Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Gly Arg Ser Tyr Cys Gly
 115 120 125
 Arg Ala Tyr Ala Ile Ala Arg Gly Gln Arg Tyr Tyr Gly Phe Gly Arg
 130 135 140
 Thr Val Tyr Pro Glu Glu His Ser Arg Trp Arg Asp Arg Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 Arg Ser Arg Ser Arg Thr Pro Phe Arg Leu Ser Glu Lys Asp Arg Met
 165 170 175
 Glu Leu Leu Glu Ile Ala Lys Thr Asn Ala Ala Lys Ala Leu Gly Thr
 180 185 190
 Thr Asn Ile Asp Leu Pro Ala Ser Leu Arg Thr Val Pro Ser Ala Lys
 195 200 205
 Glu Thr Ser Arg Gly Ile Gly Val Ser Ser Asn Gly Ala Lys Pro Glu
 210 215 220
 Val Ser Ile Leu Gly Leu Ser Glu Gln Asn Phe Gln Lys Ala Asn Cys
 225 230 235 240
 Gln Ile

<210> 16
 <211> 3553

17/175

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1699).. (2994)

<400> 16

```

aggggcgggc gcgccgctgc atccccatcc togtcgtcgc ccggcacagc gcgagcgggc 60
gagcggcgcg ggccggccgga gcgccgaggg ccggccatgg ccaccaccag caccacgggc 120
tccaccctgc tgcagcccct cagcaacgcc gtgcagctgc ccatcgacca ggtcaacttt 180
gtagtgtgcc aactctttgc cttgctagca gccatttggg ttcgaaactta tctacattca 240
agcaaaacta gctcttttat aagacatgta gttgctaccc ttttgggcct ttatcttgca 300
cttttttgct ttggatggta tgccttacac ttcttgttac aaagtggaaat ttcctactgt 360
atcatgatca tcataggagt ggagaacatg cacaattact gotttgtgct gatgaatccc 420
ctaattgattt tggtaaaaaa cattaagtta aggtggatac acatcttgct atatgatcaa 480
atggtttcgc gaaaaatcaa taatcagaca acaagatgtg cgaactcgat attttacag 540
actctcttta ccaattctgc ccgaattac acttaaaacg actcaacagc ttaacgttgg 600
cttgccacgc attacttgac tgtaaaactc tcaactttac cgaacttggc cgtaacctgc 660
caaccaaagc gagaacaaaa cataacatca aacgaatcga ccgattgta ggtaatcgct 720
acctccacaa agagcgactc gctgtatacc gttggcatgc tagctttatc tgttcgggca 780
atacgatgcc cattgtactt gttgactggg ctgatattcg tgagcaaaaa cgacttatgg 840
tattgcgagc ttcagtcgca ctacacgggc gttctgttac tctttatgag aaagcgttcc 900
cgctttcaga gcaatgttca aagaaagctc atgaccaatt tctagccgac cttgcgagca 960
ttctaccgag taacaccaca ccgctcattg tcagtgatgc tggctttaaa gtgccatggt 1020
ataaatccgt tgagaagctg ggttgggtact ggtaagtgc agtaagagga aaagtacaat 1080
atgcagacct aggagcggaa aactggaaac ctatcagcaa cttacatgat atgtcatcta 1140
gtcactcaaa gactttaggc tataagaggc tgactaaaag caatccaatc tcatgccaaa 1200
ttctattgta taaatctcgc tctaaaggcc gaaaaaatca gcgctcgaca cggactcatt 1260
gtcaccaccc gtcacctaaa atctactcag cgtcggcaaa ggagccatgg gttctagcaa 1320
ctaacttacc tgttgaaatt cgaacaccca aacaacttgt taatatctat tcgaagcgaa 1380
tgcagattga agaaaccttc cgagacttga aaagtccctg ctacggacta ggcctacgcc 1440
atagccgaac gagcagctca gagcgttttg atatcatgct gctaatcgcc ctgatgcttc 1500
aactaacatg ttggcttgcg ggcgttcatt ctcagaaaca aggttggggc aagcacttcc 1560
aggctaacac agtcagaaat cgaaacgtac tctcaacagt tcgcttaggc atggaagttt 1620
tgcggcattc tggctacaca ataacaaggg aagacttact cgtggctgca accctactag 1680
ctcaaaattht attcacacat ggttacgctt tggggaaatt atgaggggat ctctcagtgc 1740
tttgtgtttg ctctgggata cctcacagtg tgccaagtta ctcgagtcta tatctttgac 1800
tatggacaat attctgctga tttttcaggg ccaatgatga tcattactca gaagatcact 1860
agtttggctt gcgaaattca tgatgggatg tttcggaagg atgaagaact gacttctca 1920
cagagggatt tagctgtaag gcgcatgcca agcttactgg agtatttgag ttacaactgt 1980
aacttcatgg ggatcctggc agggccactt tgctcttaca aagactacat tactttcatt 2040
gaaggcagat cataccatat cacacaatct ggtgaaaatg gaaaagaaga gacacagtat 2100
gaaagaacag agcatctcc aaatactgcg gttgttcaga agctcttagt ttgtgggctg 2160
tccttgttat ttcacttgac catctgtaca acattacctg tggagtacaa cattgatgag 2220
cattttcaag ctacagcttc gtggccaaca aagattatct atctgtatat ctctcttttg 2280
gctgccagac ccaaatacta ttttgcatgg acgctagctg atgccattaa taatgctgca 2340
ggcttttggt tcagagggtg tgacgaaaaa ggagcagctc gctgggactt aatttccaat 2400

```



18/175

```

ttgagaattc aacaaataga gatgtcaaca agtttcaaga tgtttcttga taattggaat 2460
attcagacag ctctttggct caaaagggtg tgttatgaac gaacctcctt cagtccaact 2520
atccagacgt tcattctctc tgccatttgg cacggggtat acccaggata ttatctaacg 2580
tttctaacag ggggtgttaat gacatttagca gcaagagcta tgagaaataa ctttagacat 2640
tatttcattg aaccttccca actgaaatta ttttatgatg ttataacatg gatagtaact 2700
caagtagcaa taagttacac agttgtgcc a tttgtgcttc tttctataaa accatcactc 2760
acgttttaca gctcctggta ttattgcctg cacattcttg gtatcttagt attattgttg 2820
ttgccagtga aaaaaactca aagaagaaag aatacacatg aaaacattca gctctcaca 2880
tccagaaagt ttgatgaagg agaaaattct ttgggacaga acagttttct tacaacaaac 2940
aatgtttgca atcagaatca agaaatagcc tcgagacatt catcaactaa gcagtgatcg 3000
ggaaggctct gagggctgtt ttttttttg atgttaacag aaaccaatct tagcaccttt 3060
tcaaggggtt tgagtttgtt ggaaaagcag ttaactgggg ggaaatggac agttatagat 3120
aaggaatttc ctgtacacca gatttgaaat ggagtgaaac aagccctccc atgocatgtc 3180
cccggtgggc acgccttatg taagaatatt tccatatttc agtgggcact cccaacctca 3240
gcacttgtcc gtagggtcac acgcgtgcc tgttgcgtga tgtatgttgc gtatcccaag 3300
gcactgaaga ggtggaaaaa taatcgtgtc aatctggatg atagagagaa attaactttt 3360
ccaaatgaat gtcttgctt aaacctcta tttcctaaaa tattgttctt aaatggtatt 3420
ttcaagtgt aatattgtgag aacgctactg cagtagttga tgttgtgtgc tgtaaaggat 3480
tttaggagga atttgaaaca ggatatttaa gagtgtggat atttttaaaa tgcaataaac 3540
atctcagtat ttg 3553

```

<210> 17

<211> 432

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

```

Met Val Thr Leu Trp Gly Asn Tyr Glu Gly Ile Ser Gln Cys Phe Val
  1             5             10             15
Phe Ala Leu Gly Tyr Leu Thr Val Cys Gln Val Thr Arg Val Tyr Ile
      20             25             30
Phe Asp Tyr Gly Gln Tyr Ser Ala Asp Phe Ser Gly Pro Met Met Ile
      35             40             45
Ile Thr Gln Lys Ile Thr Ser Leu Ala Cys Glu Ile His Asp Gly Met
      50             55             60
Phe Arg Lys Asp Glu Glu Leu Thr Ser Ser Gln Arg Asp Leu Ala Val
      65             70             75             80
Arg Arg Met Pro Ser Leu Leu Glu Tyr Leu Ser Tyr Asn Cys Asn Phe
      85             90             95
Met Gly Ile Leu Ala Gly Pro Leu Cys Ser Tyr Lys Asp Tyr Ile Thr
      100            105            110
Phe Ile Glu Gly Arg Ser Tyr His Ile Thr Gln Ser Gly Glu Asn Gly
      115            120            125
Lys Glu Glu Thr Gln Tyr Glu Arg Thr Glu Pro Ser Pro Asn Thr Ala
      130            135            140
Val Val Gln Lys Leu Leu Val Cys Gly Leu Ser Leu Leu Phe His Leu
      145            150            155            160

```


19/175

Thr Ile Cys Thr Thr Leu Pro Val Glu Tyr Asn Ile Asp Glu His Phe
 165 170 175
 Gln Ala Thr Ala Ser Trp Pro Thr Lys Ile Ile Tyr Leu Tyr Ile Ser
 180 185 190
 Leu Leu Ala Ala Arg Pro Lys Tyr Tyr Phe Ala Trp Thr Leu Ala Asp
 195 200 205
 Ala Ile Asn Asn Ala Ala Gly Phe Gly Phe Arg Gly Tyr Asp Glu Asn
 210 215 220
 Gly Ala Ala Arg Trp Asp Leu Ile Ser Asn Leu Arg Ile Gln Gln Ile
 225 230 235 240
 Glu Met Ser Thr Ser Phe Lys Met Phe Leu Asp Asn Trp Asn Ile Gln
 245 250 255
 Thr Ala Leu Trp Leu Lys Arg Val Cys Tyr Glu Arg Thr Ser Phe Ser
 260 265 270
 Pro Thr Ile Gln Thr Phe Ile Leu Ser Ala Ile Trp His Gly Val Tyr
 275 280 285
 Pro Gly Tyr Tyr Leu Thr Phe Leu Thr Gly Val Leu Met Thr Leu Ala
 290 295 300
 Ala Arg Ala Met Arg Asn Asn Phe Arg His Tyr Phe Ile Glu Pro Ser
 305 310 315 320
 Gln Leu Lys Leu Phe Tyr Asp Val Ile Thr Trp Ile Val Thr Gln Val
 325 330 335
 Ala Ile Ser Tyr Thr Val Val Pro Phe Val Leu Leu Ser Ile Lys Pro
 340 345 350
 Ser Leu Thr Phe Tyr Ser Ser Trp Tyr Tyr Cys Leu His Ile Leu Gly
 355 360 365
 Ile Leu Val Leu Leu Leu Leu Pro Val Lys Lys Thr Gln Arg Arg Lys
 370 375 380
 Asn Thr His Glu Asn Ile Gln Leu Ser Gln Ser Arg Lys Phe Asp Glu
 385 390 395 400
 Gly Glu Asn Ser Leu Gly Gln Asn Ser Phe Ser Thr Thr Asn Asn Val
 405 410 415
 Cys Asn Gln Asn Gln Glu Ile Ala Ser Arg His Ser Ser Leu Lys Gln
 420 425 430

<210> 18

<211> 1031

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (102).. (734)

<400> 18

gggttgagcg ggaggcgcca tcggtccggt cgggtggctcc ccgcggcggg gccgggcccg 60
 atctcgggagc ggaaccgagc gcagagccgg tagcgggaag gatgaccacg ctcacacgac 120

20/175

```

aagacctcaa ctttggccaa gtggtggcog atgtgtcttg cgagttcctg gaggtggctg 180
tgcatctcat cctctacgtg cgcgaggtct acccgtggg catcttcag aaacgcaaga 240
agtacaacgt gccggtccag atgtcctgcc acccggagct gaatcagtat atccaggaca 300
cgctgcactg cgtcaagcca ctcttgagga agaattgatgt ggagaaagtg gtggtgggtga 360
ttttggataa agagcaccgc ccagtggaga aattcgtctt tgagatcacc cagcctccac 420
tgctgtccat cagctcagac tcgtgttgt ctcatgtgga gcagctgctc cgggccttca 480
tcctgaagat cagcgtgtgc gatgccgtcc tggaccacaa cccccaggo tgtaccttca 540
cagtcctggt gcacacgaga gaagccgcca ctgcacaat ggagaagatc caggatcatca 600
aggatttccc ctggatcctg gcggatgagc aggatgtcca catgcatgac ccccggtga 660
taccactaaa aacctgacg tcggacattt taaagatgca gotttacgtg gaagagcgcg 720
ctcataaagg cagctgaggg ggcacctgcc acccactga tgccaaaact gtcagacttt 780
gggggatccc cgcctagggc agtgcctgcat ggctgccctg attccaagt ctcttatcgc 840
ctctgtgtgt ggatgcccg cccagcccg gggccgctca ggtctgcttg gaggatgcct 900
ccccaggag ggcagtgagg gatgccgcaa cctcgacttc tcagcctcct ggggttccgc 960
cggccaacac tgtctgtctc aaatactgtg ctgtgagttg ttccaataaa ggggccccaa 1020
gggctgggct g 1031

```

<210> 19

<211> 211

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

```

Met Thr Thr Leu Thr Arg Gln Asp Leu Asn Phe Gly Gln Val Val Ala
  1             5             10             15
Asp Val Leu Cys Glu Phe Leu Glu Val Ala Val His Leu Ile Leu Tyr
      20             25             30
Val Arg Glu Val Tyr Pro Val Gly Ile Phe Gln Lys Arg Lys Lys Tyr
      35             40             45
Asn Val Pro Val Gln Met Ser Cys His Pro Glu Leu Asn Gln Tyr Ile
      50             55             60
Gln Asp Thr Leu His Cys Val Lys Pro Leu Leu Glu Lys Asn Asp Val
      65             70             75             80
Glu Lys Val Val Val Val Ile Leu Asp Lys Glu His Arg Pro Val Glu
      85             90             95
Lys Phe Val Phe Glu Ile Thr Gln Pro Pro Leu Leu Ser Ile Ser Ser
      100            105            110
Asp Ser Leu Leu Ser His Val Glu Gln Leu Leu Arg Ala Phe Ile Leu
      115            120            125
Lys Ile Ser Val Cys Asp Ala Val Leu Asp His Asn Pro Pro Gly Cys
      130            135            140
Thr Phe Thr Val Leu Val His Thr Arg Glu Ala Ala Thr Arg Asn Met
      145            150            155            160
Glu Lys Ile Gln Val Ile Lys Asp Phe Pro Trp Ile Leu Ala Asp Glu
      165            170            175
Gln Asp Val His Met His Asp Pro Arg Leu Ile Pro Leu Lys Thr Met
      180            185            190

```


21/175

Thr Ser Asp Ile Leu Lys Met Gln Leu Tyr Val Glu Glu Arg Ala His
 195 200 205
 Lys Gly Ser
 210

<210> 20
 <211> 2869
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (569).. (2170)

<400> 20
 cacgaagcag ggaaagggat ctggtaaaac ctaaatatga cctggataga acagatccat 60
 tagaaaataa ttatactcca gtctcttcgg tacctagtat ttcatctggc cactaccctg 120
 tacctacttt gagcagcact attacagtaa ttgctcctac tcatcatgga aacaacacta 180
 ccgaaagtgt gtctgaattt catgaagacc aagtggacca taactottac gtaagaccac 240
 ccatgccaaa gaaacgggtg agagactatg atgaaaaggg tttttgtatg agaggagaca 300
 tgtgtccttt tgatcatgga agtgatccag tagttgtaga agatgtgaat cttcctggta 360
 tgctgccttt ccagcacag cctcctgttg ttgaaggacc acctcctcct ggactcccc 420
 cactccacc aattcttaca cccccacctg tgaatctcag gccccagta ccaccgccag 480
 gtccattgcc acccagtctc ccacctgtta cagatgatat ttcttattct ttggttttga 540
 caggaccacc acctccactt ccagacctat gtatagacac agagtgcag cacaaggcc 600
 caacttgata ggactaacat caggggatat ggatttgcca cccagagaaa agcctcccaa 660
 taaaagcagt atgaggatag tagtggactc agaatcaagg aaaagaacca ttggttctgg 720
 agagcctgga gttcctacaa agaagacttg gtttgataaa ccaaatttta atagaacaaa 780
 cagcccaggc tttcagaaga aggttcaatt tggaaatgaa aataccaagc ttgaacttag 840
 aaaagttcct ccagaattaa ataatatcag caaacttaat gaacatttta gtcgatttgg 900
 aaccttggtt aacttacagg ttgcttataa tgggtgatcct gaaggtgccc taatccaatt 960
 tgcaacatac gaagaagcaa agaaagcaat atcaagtaag gaagcagtat taaacaatcg 1020
 ctttattaag gtttattggc acagagaagg aagcacccaa cagttacaaa ctacttctcc 1080
 aaagccttta gtccagcagc ccattttgcc tgttgtgaag cagtcagtca aagagcggct 1140
 gggtcagta ccttcaagta ctattgaacc tgcagaagcc cagagtgcct cttcagacct 1200
 tcctcaggtg ttgtctacat ctactggcct aacaaaaaca gtgtataatc cagctgcttt 1260
 gaaggctgca caggaaacct tacttgtttc cacctctgca gttgataata atgaagcaca 1320
 gaaaaaaaaa caggaggcat tgaaacttca gcaggatgta aggaaaagga aacaagaaat 1380
 tttagaaaag cacattgaaa cacagaagat gttaatttca aaactggaga aaaacaaaac 1440
 aatgaagtct gaagataaag cagaaataat gaaaacttta gaggttttga caaaaaatat 1500
 taccaagttg aaagatgagg tcaaagctgc ttctcctgga cgctgtcttc caaaaagtat 1560
 aaaaaccaag actcagatgc agaaggaatt acttgacaca gaactggatt tatataagaa 1620
 gatgcaggct ggagaagaag tcaactgaact taggagaaag tatacagaat tacagctgga 1680
 agctgccaaa cgagggattc ttcatctgg tcggggcaga ggaattcatt caagaggtcg 1740
 aggtgcagtt catggccgag gcagggggcg agggcgaggg cgaggtgtgc ctggtcatgc 1800
 tgtgttggtat caccgtccca gggcatttga gatctctgca ttacgggga gcgatagaga 1860
 agatcttctt cctcattttg cgcaatatgg tgaaattgaa gattgtcaga ttgatgattc 1920

22/175

```

ctcacttcat gcagtaatta cattcaagac aagagcagaa gotgaagcag ctgcagttca 1980
tgagagctcgt ttcaaagggc aagatctaaa actggcatgg aataaaccag taactaatat 2040
ttcagctggt gaaacagaag aagttgagcc tgatgaagaa gaatttcagg aagagtcttt 2100
ggtggatgac tcattacttc aagatgatga tgaagaagaa gaggacaatg aatctcgttc 2160
ttggagaaga tgatttgact gatcattgat ctgcatatgc tagaactcta cctgtgtttc 2220
attagtatta tctaattgtac ttttacatat ttgtaaaaac aatttttggg aaaatgtgat 2280
gaagatggat ttcacaaata gacaaaaaag aagaaaaacta ccttctgato ttgtattttg 2340
aaagattgat gtttgcattt tacttcagta aacaattgct aaagacatca cactagaaac 2400
atatgcaatg tttttattac atacittotac tggacatcac agaattcttt gggttctttg 2460
taatttaatg aataggtctg aaaacttatg accaataactt gttataaactt agaggacttt 2520
gttttattcc aaataaggaa tgaatttgca tttaaaatct taatgaatgt tttcaaaact 2580
gaatagataa catagtactc taactaaagt ctccaagtta tgtattataa tattacatag 2640
tagtatgctt aggcittact atgtattagc cttttgttgg actgtgtatg tattttacca 2700
tatgggtttt aatgataatg gtgtatgact gctttacatg agtccttatg catccagatg 2760
ttataataaa gtggaatggg ctctttaaaa aaaaaaaagg aaagaaaaga gaaaagcaat 2820
gacaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcca agacaatggt ccttgattt 2869

```

<210> 21

<211> 534

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

```

Met Tyr Arg His Arg Val His Ala Gln Arg Pro Asn Leu Ile Gly Leu
 1           5           10          15
Thr Ser Gly Asp Met Asp Leu Pro Pro Arg Glu Lys Pro Pro Asn Lys
          20          25          30
Ser Ser Met Arg Ile Val Val Asp Ser Glu Ser Arg Lys Arg Thr Ile
          35          40          45
Gly Ser Gly Glu Pro Gly Val Pro Thr Lys Lys Thr Trp Phe Asp Lys
          50          55          60
Pro Asn Phe Asn Arg Thr Asn Ser Pro Gly Phe Gln Lys Lys Val Gln
          65          70          75          80
Phe Gly Asn Glu Asn Thr Lys Leu Glu Leu Arg Lys Val Pro Pro Glu
          85          90          95
Leu Asn Asn Ile Ser Lys Leu Asn Glu His Phe Ser Arg Phe Gly Thr
          100         105         110
Leu Val Asn Leu Gln Val Ala Tyr Asn Gly Asp Pro Glu Gly Ala Leu
          115         120         125
Ile Gln Phe Ala Thr Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Ala Ile Ser Ser Thr
          130         135         140
Glu Ala Val Leu Asn Asn Arg Phe Ile Lys Val Tyr Trp His Arg Glu
          145         150         155         160
Gly Ser Thr Gln Gln Leu Gln Thr Thr Ser Pro Lys Pro Leu Val Gln
          165         170         175
Gln Pro Ile Leu Pro Val Val Lys Gln Ser Val Lys Glu Arg Leu Gly
          180         185         190

```


23/175

Pro Val Pro Ser Ser Thr Ile Glu Pro Ala Glu Ala Gln Ser Ala Ser
 195 200 205
 Ser Asp Leu Pro Gln Val Leu Ser Thr Ser Thr Gly Leu Thr Lys Thr
 210 215 220
 Val Tyr Asn Pro Ala Ala Leu Lys Ala Ala Gln Glu Thr Leu Leu Val
 225 230 235 240
 Ser Thr Ser Ala Val Asp Asn Asn Glu Ala Gln Lys Lys Lys Gln Glu
 245 250 255
 Ala Leu Lys Leu Gln Gln Asp Val Arg Lys Arg Lys Gln Glu Ile Leu
 260 265 270
 Glu Lys His Ile Glu Thr Gln Lys Met Leu Ile Ser Lys Leu Glu Lys
 275 280 285
 Asn Lys Thr Met Lys Ser Glu Asp Lys Ala Glu Ile Met Lys Thr Leu
 290 295 300
 Glu Val Leu Thr Lys Asn Ile Thr Lys Leu Lys Asp Glu Val Lys Ala
 305 310 315 320
 Ala Ser Pro Gly Arg Cys Leu Pro Lys Ser Ile Lys Thr Lys Thr Gln
 325 330 335
 Met Gln Lys Glu Leu Leu Asp Thr Glu Leu Asp Leu Tyr Lys Lys Met
 340 345 350
 Gln Ala Gly Glu Glu Val Thr Glu Leu Arg Arg Lys Tyr Thr Glu Leu
 355 360 365
 Gln Leu Glu Ala Ala Lys Arg Gly Ile Leu Ser Ser Gly Arg Gly Arg
 370 375 380
 Gly Ile His Ser Arg Gly Arg Gly Ala Val His Gly Arg Gly Arg Gly
 385 390 395 400
 Arg Gly Arg Gly Arg Gly Val Pro Gly His Ala Val Val Asp His Arg
 405 410 415
 Pro Arg Ala Leu Glu Ile Ser Ala Phe Thr Gly Ser Asp Arg Glu Asp
 420 425 430
 Leu Leu Pro His Phe Ala Gln Tyr Gly Glu Ile Glu Asp Cys Gln Ile
 435 440 445
 Asp Asp Ser Ser Leu His Ala Val Ile Thr Phe Lys Thr Arg Ala Glu
 450 455 460
 Ala Glu Ala Ala Ala Val His Gly Ala Arg Phe Lys Gly Gln Asp Leu
 465 470 475 480
 Lys Leu Ala Trp Asn Lys Pro Val Thr Asn Ile Ser Ala Val Glu Thr
 485 490 495
 Glu Glu Val Glu Pro Asp Glu Glu Glu Phe Gln Glu Glu Ser Leu Val
 500 505 510
 Asp Asp Ser Leu Leu Gln Asp Asp Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asn Glu
 515 520 525
 Ser Arg Ser Trp Arg Arg
 530

<210> 22

<211> 1876

24/175

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (302).. (1243)

<400> 22

```
gaaggaagcc cccagcccct tccaggccct gttctcagat atccccccca ggtacccggt 60
ccaagcccctg ccaccgcact acgggaggcc ctaccctttc ctgctgcagc ccacggccgc 120
cgccgacgcg gacggcttgg cccctgatgt gccgctcccg gctgatgggc ccgagcgccct 180
ggcactctca cccgaagaca agcccatccg cttgtccccc tccaagatca cagagccgct 240
gcgggagggc cgggaggaag aaccgctggc tgagcgggag gtgaaggcag aggtggagga 300
catggacgag ggccccacag agctgcgcgc tctggagtcg ccgctgccac tgcccgccgc 360
ggaagccatg gctaccccca gccctgcagg gggttgtgga ggtggcctgt tggaggccca 420
ggcgtgagtg gccaccgggc agagctgcgc agagccctct gagtgtccag actttgtgga 480
ggggcctgaa ccacgggttg attccccggg cgggacagaa ccctgcaccg ccgccctgga 540
cctgggggtg cagctgacac ccgagacact ggccgaggcc aaggaggagc cgggtggagt 600
gcctgtggcg gtgcccgttg tggaggcagt gcccgaggaa ggccctggcg aggtggcacc 660
gagcgagtcc cagcccaccc tagaaatgtc agactgtgac gtgcccgcgc gggagggaca 720
gtgcccagag ctggagcccc aagaggccgt gcctgtactc ggcagcacct gcttccctgga 780
agaggcaagc tctgaccagt tctgcccag tctggaggac ccactggctg gcatgagcgc 840
cctggcggca gctgcggagc tgccccaggc caggcctctg ccctccccgg gtgctgctgg 900
agcccaggcc ttggagaagc tggaaagcag cgagagcctt gtcttggagc agagcttccct 960
gcatggcatc accctgctaa gtgagatcgc agagctggag ctggagagga ggagcccacc 1020
ccaaggcctc ccaccgtgca tgggacaggg cagcccgatg ccagctggcc tacctgactg 1080
tgccaggggc cctgccccca ccctctcagg atggcctaga cttggggaac agagccgggt 1140
ggggttgcag cccggagtgt ctgtcaaagg caccaggtgg agagggcccg gcacaggccc 1200
accctggtcc aaaccctcac actacagaaa accccaatgg tgctgaaact gtcgcccggc 1260
cacgcctggc ccctccccac ccaggaggga ggtggcactt cttaacctgt acagttttat 1320
tgtaccaaga gactcgcccc gccctgtat cataagcctt taaatggagt caacttttta 1380
attatatata taaagataaa tatatatata tatatatata aactttttta aactgtgaaa 1440
aatagctatg aaattataaa aaaaaaacat tctgacgtgc agaataattat tttttatttc 1500
ctgttagatt atagtgtcta gcaccggctt caccggcctc ccagtcccca gcacaccccc 1560
cgcccacccc gccaaagtgt ctgtactcac ccccaggat agagaagtgt ttgttaggga 1620
gagaagaggg agaggcagga gccggcccaa gccagggtc cctgcttggg cccagaaaag 1680
cacttaacca ggccccaaag cttcaaggga aaccaaggcc tcaaccagac aatcttgagg 1740
gaaggaaaag ccagactttg ggtttgtttt ttgggggaat tattggtttt ttttttttat 1800
gtttcttttg gaattttgtt tgttggcaaa ttctgtgtga tcttttttca taaaaaaaaa 1860
gaaaagattt aattgg
```

<210> 23

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

25/175

Met Asp Glu Gly Pro Thr Glu Leu Pro Pro Leu Glu Ser Pro Leu Pro
 1 5 10 15
 Leu Pro Ala Ala Glu Ala Met Ala Thr Pro Ser Pro Ala Gly Gly Cys
 20 25 30
 Gly Gly Gly Leu Leu Glu Ala Gln Ala Leu Ser Ala Thr Gly Gln Ser
 35 40 45
 Cys Ala Glu Pro Ser Glu Cys Pro Asp Phe Val Glu Gly Pro Glu Pro
 50 55 60
 Arg Val Asp Ser Pro Gly Arg Thr Glu Pro Cys Thr Ala Ala Leu Asp
 65 70 75 80
 Leu Gly Val Gln Leu Thr Pro Glu Thr Leu Ala Glu Ala Lys Glu Glu
 85 90 95
 Pro Val Glu Val Pro Val Ala Val Pro Val Val Glu Ala Val Pro Glu
 100 105 110
 Glu Gly Leu Ala Gln Val Ala Pro Ser Glu Ser Gln Pro Thr Leu Glu
 115 120 125
 Met Ser Asp Cys Asp Val Pro Ala Gly Glu Gly Gln Cys Pro Ser Leu
 130 135 140
 Glu Pro Gln Glu Ala Val Pro Val Leu Gly Ser Thr Cys Phe Leu Glu
 145 150 155 160
 Glu Ala Ser Ser Asp Gln Phe Leu Pro Ser Leu Glu Asp Pro Leu Ala
 165 170 175
 Gly Met Ser Ala Leu Ala Ala Ala Ala Glu Leu Pro Gln Ala Arg Pro
 180 185 190
 Leu Pro Ser Pro Gly Ala Ala Gly Ala Gln Ala Leu Glu Lys Leu Glu
 195 200 205
 Ala Ala Glu Ser Leu Val Leu Glu Gln Ser Phe Leu His Gly Ile Thr
 210 215 220
 Leu Leu Ser Glu Ile Ala Glu Leu Glu Leu Glu Arg Arg Ser Pro Pro
 225 230 235 240
 Gln Gly Leu Pro Pro Cys Met Gly Gln Gly Ser Pro Met Pro Ala Gly
 245 250 255
 Leu Pro Asp Cys Ala Arg Gly Pro Ala Pro Thr Leu Ser Gly Trp Pro
 260 265 270
 Arg Leu Gly Glu Gln Ser Arg Val Gly Leu Gln Pro Gly Val Ser Val
 275 280 285
 Lys Gly Thr Arg Trp Arg Gly Pro Gly Thr Gly Pro Pro Trp Ser Lys
 290 295 300
 Pro Ser His Tyr Arg Lys Pro Gln Trp Cys
 305 310

<210> 24

<211> 1907

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

26/175

<221> CDS

<222> (446).. (1087)

<400> 24

```

ataagggaaa aaaactccat taaaaagccc agctttcctc catgttagat gtgacttgga 60
aatgagaaa gatttagcaa aattccaccg tgtcttttgc caggctagag acagggagag 120
cagagtaaaa cctcagggt gctgaaattt ctaggctgtt aggaagcccc tcgaattctg 180
tgaaaatgag ggtttcttaa ctcacactga gagcggaaaag gggcagaccc ttttcataac 240
tccctcaagt gtgtgttacc tttctttacc agcatggtaa gcaacaggac atatcccagc 300
ctcggacatg totgtatgat ccaagggtacc caaagtcaga cagagtaaac tcaagcctgg 360
cactggcctt ctgccgcttc atgtgctttg gaaaaagcag gagaagcaat agcagcagga 420
gtccccagca gctggagccg caagaatgaa ctgcaaagag ggaactgaca gcagctgcgg 480
ctgcaggggc aacgacgaga agaagatgtt gaagtgtgtg gtgggtggggg acggtgccgt 540
ggggaaaacc tgcctgctga tgagctacgc caacgacgcc tcccagagg aatacgtgcc 600
cactgtgttt gaccactatg cagttactgt gactgtggga ggcaagcaac acttgctcgg 660
actgtatgac accgcgggac aggaggacta caaccagctg aggccactct cctaccccaa 720
cacggatgtg tttttgatct gcttctctgt cgtaaaccct gcctcttacc acaatgtcca 780
ggaggaatgg gtccccgagc tcaaggactg catgcctcac gtgccttatg tcctcatagg 840
gaccagatt gatctccgtg atgacccaaa aaccttggcc cgtttgctgt atatgaaaga 900
gaaaacctct acttacgagc atgggtgtgaa gctcgcaaaa gcgatcggag cacagtgcta 960
cttggaatgt tcagctctga ctcagaaagg tctcaaagcg gtttttgatg aagcaatcct 1020
caccattttc caccccaaga aaaagaagaa acgctgttct gagggtcaca gctgctgttc 1080
aattatctga ggttgtctgg gacctgcctc caccocatcc agggatgaga atggcagcca 1140
atctctgtgg ccaagctcca gccaaaaagg agggcacgac cagaaaggaa ctccctttgc 1200
acggaggctt gccccatcac cctctgagcc ctcccaacac agcacactag tcagccact 1260
gccacgacct ccctgccagc cagaagcatc cgtactgcac gotgtctgag aatgotgggc 1320
ctggattgca gacagtgcg ctgctgatcg catcaaaaac aaagtcaaag gccatctcac 1380
attttataaa tcccagctc atgaaogtga agctgatagg aaatcacccc agggaaacccg 1440
aaaaagaaac ttgattcctc tattgtgtggc ctacttgat gtcttttata aaacttggga 1500
ctacaatact aacctttttt tctgaatctg ctgttctacc catgtgtctc acattcattt 1560
gtattatttc aagaaatgta ctaatttcca gttaactcag gccttactaa tccataccaa 1620
attagcctaa agacaaggca ttttatattc atttctattt tcagcatgtt tctaccaaag 1680
ctattagaac caacacgtac ctctgaatgc ccgattataa gaagacatga gaagacttta 1740
aaagttttgg aaatttacag agccatgatt tttgaacctt attgaaagaa aaccatctga 1800
attgttgcag gtccacattt ttgccaaaga tacactctat agatgcttag tagtggcctg 1860
atttttttcc atgtattgcc acgacaaaact aaaaatgaac tgtgttt 1907

```

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

```

Met Asn Cys Lys Glu Gly Thr Asp Ser Ser Cys Gly Cys Arg Gly Asn
 1             5             10             15
Asp Glu Lys Lys Met Leu Lys Cys Val Val Val Gly Asp Gly Ala Val
          20             25             30

```


27/175

Gly Lys Thr Cys Leu Leu Met Ser Tyr Ala Asn Asp Ala Phe Pro Glu
 35 40 45
 Glu Tyr Val Pro Thr Val Phe Asp His Tyr Ala Val Thr Val Thr Val
 50 55 60
 Gly Gly Lys Gln His Leu Leu Gly Leu Tyr Asp Thr Ala Gly Gln Glu
 65 70 75 80
 Asp Tyr Asn Gln Leu Arg Pro Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Asp Val Phe
 85 90 95
 Leu Ile Cys Phe Ser Val Val Asn Pro Ala Ser Tyr His Asn Val Gln
 100 105 110
 Glu Glu Trp Val Pro Glu Leu Lys Asp Cys Met Pro His Val Pro Tyr
 115 120 125
 Val Leu Ile Gly Thr Gln Ile Asp Leu Arg Asp Asp Pro Lys Thr Leu
 130 135 140
 Ala Arg Leu Leu Tyr Met Lys Glu Lys Pro Leu Thr Tyr Glu His Gly
 145 150 155 160
 Val Lys Leu Ala Lys Ala Ile Gly Ala Gln Cys Tyr Leu Glu Cys Ser
 165 170 175
 Ala Leu Thr Gln Lys Gly Leu Lys Ala Val Phe Asp Glu Ala Ile Leu
 180 185 190
 Thr Ile Phe His Pro Lys Lys Lys Lys Lys Arg Cys Ser Glu Gly His
 195 200 205
 Ser Cys Cys Ser Ile Ile
 210

<210> 26

<211> 4869

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (150).. (4082)

<400> 26

aatgatttcc tcagtgatta cgtacagagc gagtccctgc gggttagggg cccctctctgg 60
 agccatcctg atggctttgg gggccttgct tccattttcc attattatgt ggactaccgg 120
 agcgacagcg cagtccaaga ccttgcagga tgtctcgccg caagcaagcg aaaccgagat 180
 ccctcaaaga cccaactgt aaacttgaag acaagactga agatggagag gcactagatt 240
 gtaagaagag gccggaagac ggggaggagt tggaagacga agctgtgcac agctgtgaca 300
 gctgcctcca ggtgtttgaa tcgctgagcg ataccacaga acacaagatt aatcaatgtc 360
 aactgacaga tggagtggat gttgaagatg atccgacttg ctcttggcca gcttcctcac 420
 cttctagcaa ggatcagact tcccctagcc atggagaagg ttgcgatttt ggagaggaag 480
 aaggtggccc tgggcttcca taccgtgtgc aattctgtga caagtcgttt agccgcctca 540
 gctacctaaa gcaccatgag cagagtcaca gtgacaaact gcctttcaaa tgcacctact 600
 gcagtaggct gttcaaacac aagcgcagcc gagatcgcca cataaaactc cacaccgggg 660
 acaagaagta ccactgcagt gaatgtgatg ctgcgttttc cagaagtgat cacttgaaga 720

28/175

| | | | | | | |
|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|
| tccacttaaa | gactcacacg | tccaacaagc | catataaatg | tgccatttgt | cgccgtgggt | 780 |
| ttctgtcctc | tagttcctta | cacggacaca | tgcaggttca | tgagaggaac | aaggacggct | 840 |
| ctcagtcagg | ttccaggatg | gaggactgga | agatgaagga | cactcagaag | tgagtcagtc | 900 |
| gtgaggaagg | ctttgacttc | cggaagacc | tccaaaaaca | cattgcagag | tgccaccccg | 960 |
| aatgctcccc | aaatgaggac | cgagcggccc | tccagtggtg | ctactgccac | gagctcttcg | 1020 |
| tagaggagac | ctccctcatg | aaccacatgg | agcaggtgca | tagcggggag | aagaagaact | 1080 |
| catgcagcat | ttgttctgag | agtttccaca | cagttgagga | actgtacagc | cacatggaca | 1140 |
| gtcaccagca | accggagtca | tgcaatcaca | gcaacagccc | ttccctggtc | acggtgggct | 1200 |
| atacctccgt | gtccagtacg | actccagatt | ccaacctctc | agtggacagc | tcaaccatgg | 1260 |
| tggaagctgc | cccgccaatc | ccaaagagtc | gagggaggaa | gagggccgct | caacaaaccc | 1320 |
| ctgacatgac | tggtccctcg | agtaaacaag | caaaagttac | ctacagctgt | atttactgca | 1380 |
| acaaacaatt | attttcaagt | cttgacgttc | tgcagattca | cctgaaaact | atgcacttag | 1440 |
| ataagccaga | acaggcccat | atgtgtcagt | attgcttggg | ggtcctgccc | tcaactctata | 1500 |
| acctaaatga | acatcttaag | caagtgcatt | aagctcagga | cccaggtctg | attgtttctg | 1560 |
| ccatgcctgc | cattgtctac | cagtgtaact | tctgttccga | agttgtcaac | gacctcaaca | 1620 |
| ctcttcagga | acacatccga | tggttctcatg | gatttgcaaa | ccctgcagct | aaagatagta | 1680 |
| atgcattctt | ttgtcccat | tgctatatgg | ggtttctcac | tgactcttcc | ctggaagagc | 1740 |
| atattagaca | ggttcattgt | gacctcagtg | gctcccgatt | tgggtctcca | gtgcttggga | 1800 |
| ctcccaaaga | accagtagta | gaagtctatt | cttgttccca | ttgtacaaat | tcgccaatat | 1860 |
| tcaacagcgt | tcttaaactg | aacaagcata | tcaaagagaa | tcataaaaac | attcccttgg | 1920 |
| ccctgaatta | tatccacaat | gggaagaaat | ccagggcctt | aagcccccta | tctcctgtgg | 1980 |
| ccatagagca | gacatctctt | aagatgatgc | aggcagtagg | aggtgcacct | gcacgccccca | 2040 |
| ctggagaata | tatctgtaat | caatgtgggtg | ctaagtacac | atccctagac | agctttcaga | 2100 |
| ctcacctaaa | aactcatctc | gacactgtgc | ttccaaaatt | gacctgtcct | cagtgcaaca | 2160 |
| aggaattccc | caaccaagaa | tccttgcgtga | agcatgttac | cattcacttt | atgatcactt | 2220 |
| caacgtatta | catctgtgag | agttgtgaca | agcaattcac | atcagtggat | gaccttcaga | 2280 |
| aacacctgct | ggacatgcac | acctttgtct | tctttcgtctg | cacctctctg | caggaagttt | 2340 |
| ttgactcaaa | agtctccatt | cagctccact | tggtgtgtaa | gcacagtaac | gaaaagaaag | 2400 |
| tctataggtg | cacatcttgc | aactgggact | tccgcaacga | aactgacttg | cagctccatg | 2460 |
| tgaaacacaa | ccacctggaa | aaccaaggga | aagtgcataa | gtgcattttc | tgcggtgagt | 2520 |
| cctttggcac | cgaggtggag | ctgcaatgcc | acatcaccac | tcacagtaag | aagtacaact | 2580 |
| gcaagtctctg | tagcaaagcc | ttccatgoga | tcattttgtt | agaaaaacac | ttgcgagaaa | 2640 |
| aacactgtgt | attcgaaacc | aagacaccca | actgtggaac | aaatggagct | tccgagcaag | 2700 |
| tgagaaaaga | ggaagtggag | ctgcagactt | tgctgaccaa | cagccaggag | tcccacaaca | 2760 |
| gtcacgatgg | gagcgaagaa | gacgttgaca | cctctgagcc | tatgtacggc | tgcgacattt | 2820 |
| gtggggcagc | ctacactatg | gaaactttgc | tgagaaatca | ccagctccga | gaccacaaca | 2880 |
| tcagacctgg | agaaagtgcc | atogtgaaaa | agaaagctga | gctcattaaa | gggaattaca | 2940 |
| agtgcacagt | gtgctctcga | accttcttct | ccgaaaatgg | cctccgggga | catatgcaga | 3000 |
| cccacctagg | ccctgtcaaa | cactacatgt | gccctatttg | cggagagcgg | tttccctccc | 3060 |
| ttttaactct | tactgaacac | aaagtcacgc | atagtaagag | tcttgatact | ggaaactgcc | 3120 |
| ggatttgcaa | gatgcctctc | cagagtgaag | aggagttttt | agagcattgc | caaatgcacc | 3180 |
| ctgacttgag | gaattccctg | acaggctttc | gctgcgtggg | gtgcatgcag | acagtgcact | 3240 |
| ccaccttggg | actcaaaatc | catgggacgt | tccacatgca | aaagacaggg | aatgggtctg | 3300 |
| cagttcagac | cacagggcgg | ggccagcacg | tccaaaaact | gtataagtgc | gcatcttgcc | 3360 |
| tcaaagaatt | ccgttccaag | caagatctgg | tgaaacttga | tatcaatggc | ctgccatatg | 3420 |
| gtctgtgtgc | cggctgcgtg | aatctcagta | agagcgccag | cccaggcatt | aacgtccctc | 3480 |
| ccggcacgaa | tagaccaggc | ttggggccaga | atgagaatct | gagtgcattt | gaggggaaag | 3540 |
| gcaagggtggg | gggactgaag | acacgctgct | ctagctgcaa | cgtaagtgtt | gagtctgaaa | 3600 |

29/175

```

gtgaactcca gaaccacatc caaaccatcc accgagagct cgtgccagac agcaacagca 3660
cacagttgaa aacgccccaa gtatcaccaa tgcccagaat cagtccctcc cagtcggatg 3720
agaagaagac ctatcaatgc atcaagtgtc agatgggttt ctacaatgaa tgggatattc 3780
aggttcatgt tgcaaatcac atgattgatg aaggactgaa ccatgaatgc aaactctgca 3840
gccagacctt tgactctcct gccaaactcc agtgccacct gatagagcac agcttcgaag 3900
ggatgggagg caccttcaag tgtccagtct gctttacagt atttgttcaa gcaaacaagt 3960
tgcagcagca tattttctct gcccatggac aagaagacaa gatctatgac tgtacacaat 4020
gtccacagaa gtttttcttc caaacagagc tgcagaatca tacaatgacc caacacagca 4080
gttagtgcaa gtacagtctc tcaaggagaa ttgattttgt ggcacaaaaa gggaacatgt 4140
tttactcttt gcacgaaact ttcattgtta atgtatatta ttcagaaaca ttgtattgta 4200
ccataaaact tgtattatca aactgttigga tgttcatgtg ttigaacttt tgcgcaccgg 4260
atagaccctt tgtatataaa gtgttgacaa tgtattatgt cgtctgatac taaaatgggc 4320
ttataaagac aagtggactt gggccctatt caggcaagat taaaaaaaaa aaagactatg 4380
acaaaaatgg ctttaagataa agtattttta aggaagaaag attaaaaaca actgtttatac 4440
atgagactat ggttggactt cttttctttt acacttaagc ctagaatttc tctttaggta 4500
tatcagcgct taaatccaag actatttttt attgctgaag attcttgcaa accatgaaga 4560
gatgtttctc cagaacagaa cccacagctt ggataaggcc cgtatatata tatttgtaag 4620
ccttgcaatg tgacaggtag catcactata tatgcaatag ttgttatgta gactgtcaaa 4680
gaattttttt ttccctggat acatttgaag ctttgagtgt tcaaggtttt ccttaatgat 4740
ttcacgcagc caaattcttg aatcagttga actaacctgt atgttactgt tattaatgtt 4800
tactctgcag tctgaacctg gagattactg gaattgtttt ccaagaggaa ataaattcag 4860
tttaccatt

```

<210> 27

<211> 1311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

```

Met Ser Arg Arg Lys Gln Ala Lys Pro Arg Ser Leu Lys Asp Pro Asn
  1           5           10           15
Cys Lys Leu Glu Asp Lys Thr Glu Asp Gly Glu Ala Leu Asp Cys Lys
          20           25           30
Lys Arg Pro Glu Asp Gly Glu Glu Leu Glu Asp Glu Ala Val His Ser
          35           40           45
Cys Asp Ser Cys Leu Gln Val Phe Glu Ser Leu Ser Asp Ile Thr Glu
          50           55           60
His Lys Ile Asn Gln Cys Gln Leu Thr Asp Gly Val Asp Val Glu Asp
          65           70           75           80
Asp Pro Thr Cys Ser Trp Pro Ala Ser Ser Pro Ser Ser Lys Asp Gln
          85           90           95
Thr Ser Pro Ser His Gly Glu Gly Cys Asp Phe Gly Glu Glu Glu Gly
          100          105          110
Gly Pro Gly Leu Pro Tyr Pro Cys Gln Phe Cys Asp Lys Ser Phe Ser
          115          120          125
Arg Leu Ser Tyr Leu Lys His His Glu Gln Ser His Ser Asp Lys Leu
          130          135          140

```

